ブリ若年魚の標識放流結果について*

児 島 俊 平

(1960 年 10 月 12 日受理)

MIGRATORY HABITUDE OF THE YOUNG YELLOWTAIL BASED ON TAGGING EXPERIMENTS

Shumpei KOJIMA**

As far as the adult fish of yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, are concerned, tagging experiments have been successfully conducted to prove a distinct habitude of their migration along the coastal waters off Japan. However, the amount of data previously obtained from tagging the young yellowtail has been insufficient to elucidate their migratory habit. Therefore, the author liberated 160 individuals of the young fish with a tag along the Japan Sea coast of Shimane Prefecture. At the time of liberation in May 1958 and June 1959, they were possibly about two years old with the fork length ranging from 36 to 45 cm. (Fig. 1). Analytical studies of the fish recovered by October 1, 1960 revealed the following information.

1) The number of the recovered individuals was 34, constituting 22 per cent of the total released. Among the recovered fish those which stayed in the sea for three to nine months after liberation represented 53 per cent, and those staying out over nine months were 32 per cent (Table 1). Therefore, the present experiments may be said to have produced a richer result than some of previous ones.

2) Assuming that an area within a radius 30 miles from a releasing point belonged to a body of a homogeneous water, most of the recoveries were made in that area (Table 2, Figs. 2 and 3). The fact suggests that the young yellowtail have a rather limited range for their movement.

3) They were recaptured almost throughout the year either in a bay, a shallow water or on a reef within five miles off the shore.

4) Although the migratory habitude seems dependent upon topography of a liberating area, it is interesting to note that those released from the Oki Islands appear to have migrated round the islands once or twice a year in conformity with the coastal currents in the area (Fig. 3).

5) The recovered fish had the body weight ranging from 0.8 to 2.0 kg. and the body length up to 50 cm. On the basis of a previous study none of them could be regarded as older than three years.

ブリは日本の沿岸漁業にとつて，もつとも重要な魚族の一つである。したがつて生態，漁業については今までに多くの研究がおこなわれ，標識放流による研究では，ブリに著しい洄游性のあることが実証された[1-4]。しかし，従来の放流調査はブリ成魚を対象としたから若年魚***の行動については不明の点が多い。

今回，筆者はブリ若年魚を放流する機会を得て，その生態について若干の知見を得ることができたので報

---

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Shimane Pref. Fish. Exp. Sta., Shimane, Japan).

*** 一応イナダ「尾叉長 20 cm，体重 90g 前後」からハマチ「尾叉長 30～50 cm，体重 380～1,800g」の 0～2 年魚までとする。

告する。

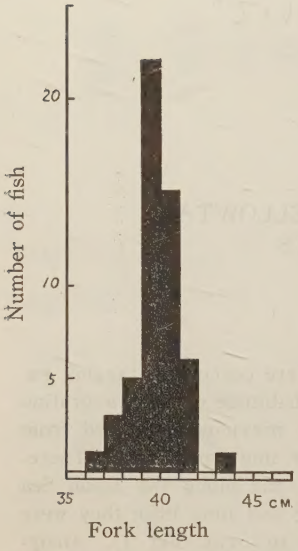


Fig. 1. Fork length composition of the young yellowtail tagged and released.

方　　法

1958年5月から1959年6月にわたつて，島根県沿岸の3地区で定置網で捕獲されたブリ1年魚を計160尾標識放流した。供試魚は体重0.8～1.0kgのもので，群組成はFig. 1のとおりであつた。標識方法は直径1.5cmのセルロイド標識板にビニールで被覆した銀線を通して尾柄に縛着した。

結　　果

1. 再捕状況

1960年10月1日までに捕獲されたものを一応再捕魚とした。再捕魚は計34尾，22.5%を得た(Table 1, 2)。放流地区別の再捕状況はつぎのとおりである(Fig. 2, 3)。

隠岐島地区： 島前北岸の小型定置網により72尾を放流して再捕魚21尾，再捕率29.2%の高率を得た。再捕魚は他海域へ移流した2尾*を除いて，すべては隠岐島から距岸3浬以内の水域で，経過日数が最少119日，最多507日の長期間にわたり再捕された。再捕漁具は秋から冬にかけてスルメイカ，ブリの小型定置網などで約50%を，春から夏にかけては主として釣，縄などで捕獲された。

Table 1. Data of recoveries of the young yellowtail tagged and released off Shimane Prefecture, 1958 and 1959.

Point of release	Month of release	Number of fish tagged	Number of fish recovered				Recovery rate (%)
			Before 90 days	After 90 days	After 270 days	Total	
Oki Is.	May '58	72	0	12	9	21	29.2
Takobana	June '59	20	2	4	1	7	35.0
Nima	〃	68	3	2	1	6	8.8
(Total)	—	160	5	18	10	34	22.5*
(Ratio, %)	—	—	(14.7)	(52.9)	(32.3)	(100)	—

* Average rate of recovery.

Table 2. Number of the young yellowtail recovered at a distance from a releasing point.

Point of release	Distance from a releasing point (miles)			Total recovered
	0～30	30～100	100<	
Oki Is.	19	1	1	21
Takobana	7	0	0	7
Nima	6	0	0	6
(Total)	32	1	1	34
(Ratio %)	(94)	(3)	(3)	(100)

* 兵庫県香住港沖4浬，一本釣。石川県七尾市地先，定置網。

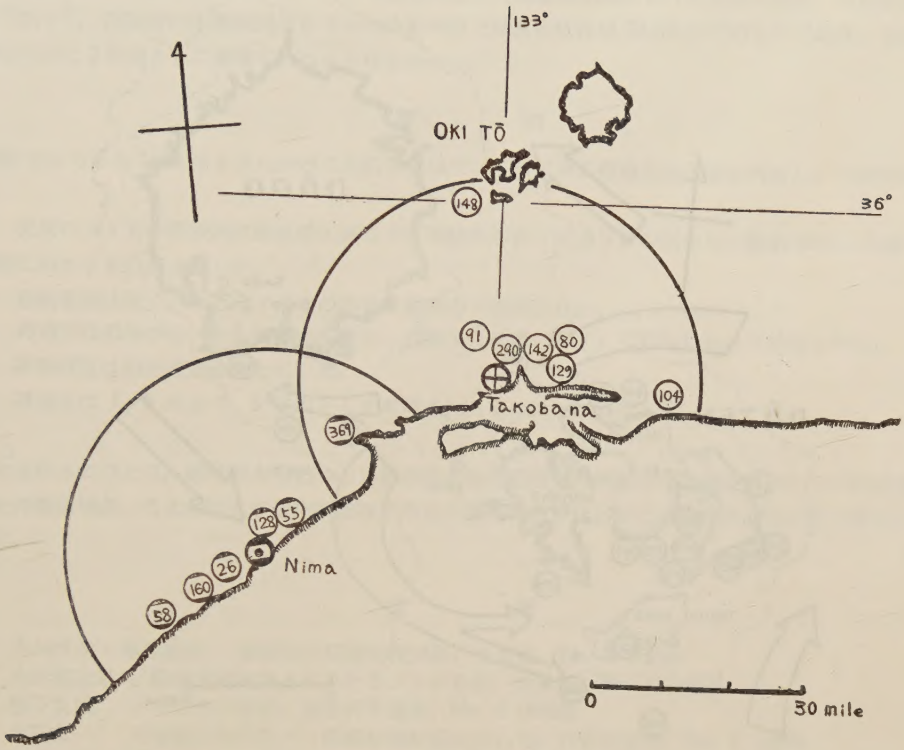


Fig. 2. Points in two coastal areas where the young yellowtail were released or recovered.
⊙, ⊕: Releasing point, respectively.
Note: Numerals in a circle represent the number of days passed before a fish was recovered at the circled point.

多古鼻地区: 20 尾を放流して再捕魚7尾，再捕率 35% を得た。経過日数は最少 80 日，最多 290 日で再捕漁具はすべて釣によつて放流海域（放流地点から 30 浬以内の水域）内の距岸3浬以内で捕獲された。

仁万地区: 68 尾を放流して経過日数は最少 26 日，最多 369 日にわたり再捕魚6尾を得た。再捕地点は放流海域内の距岸4浬以内の水域で，小型定置網と釣で 50% づつ捕獲された。

1940 年までに実施されたブリ若年魚の放流試験結果[1),2),3),5)]は，大ブリに比べて移動範囲が狭く短期再捕*で再捕率の小さなことが特徴であつたが，本調査では従来の成績と異なり再捕率が高く経過期間も中間期 53%，長期 32% と長期間にわたるものがすこぶる多かつた。

2. 移動状況

放流地点から 30 浬の水域を一応同質の放流海域と見做すと，隠岐島から他海域へ移動した2尾を除いて再捕魚のすべては放流海域内において捕獲された。それも距岸 4～5 浬までの湾内，浅瀬または礁（グリ）附近で捕獲時期は周年にわたつているが，捕獲魚の分布は地形的要因により相当異なつている。まず仁万地区についてみると，単調な東西の沿岸線に沿つて約 40 浬の広さに分散している。島根半島に突出した多古鼻地区では，放流地先の浅瀬，礁地帯で渦流域に集団的に再捕されている。そのうち2尾が隠岐島と鳥取県西部沿岸へ移動しているが，いずれも放流海域内である。

---

* 木村[2)]に従い再捕期間を短期（90 日以内），中間期（91～270 日），長期（271 日以上）に3分した。

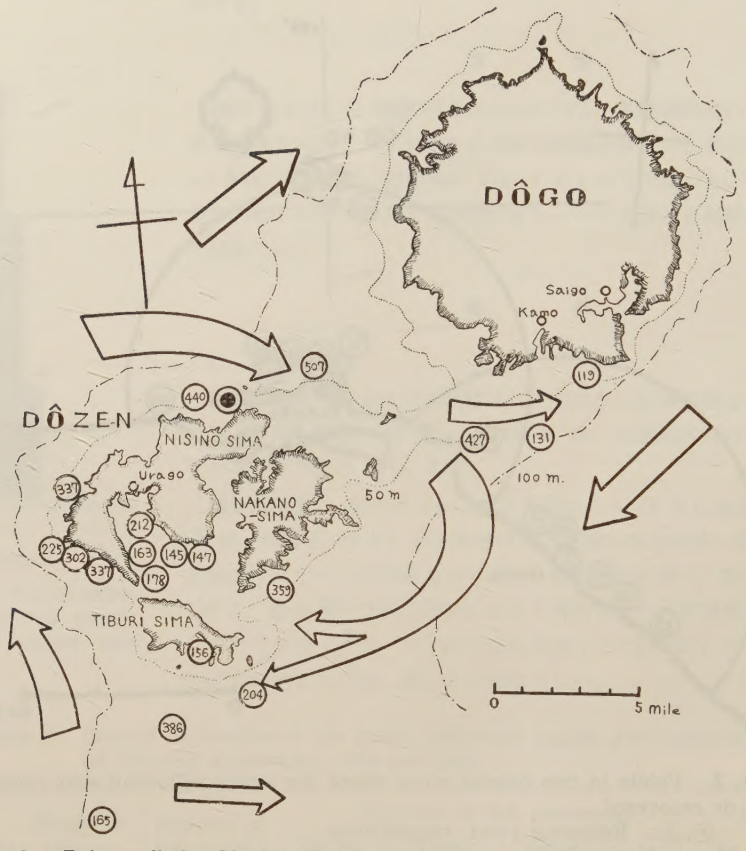


Fig. 3. Points off the Oki Islands where the young yellowtail were released or recovered.
⊙: Releasing point
Note: Numerals in a circle represent the number of days passed before a fish was recovered at the circled point.
Arrows show directions of coastal currents.

隠岐島における再捕状況は特別な傾向を持つている (Fig. 3)。再捕魚の分布は島前周辺に局限されており，約5浬の水道をはさんで隣接する島後の沿岸では南岸の一部分を除いて他の側の沿岸では捕獲されていない。また島前沿岸を経緯度線 Lat. 36°, Long. 133° により4分割して，各区画内で捕獲されたものの経過日数を追つてみると，隠岐水道側では9～10月，南側沿岸は 10～12 月，西～北岸では 1～4 月の季節に主として捕獲されている。供試魚が島前沿岸を時計廻りに年間 1～2 回迂回したことが推察される。

隠岐島周辺の表層海流を海流瓶，測流竿で調査した結果[6),7)] によると (Fig. 3)，島前の北西岸に沿つて北上する5浬以内の沿岸流は，隠岐水道の北沖合に生起する環流により水道へ急傾斜して北流せず南流するが西郷沖合からの西流に圧迫されて水道南側出口の海域では一括して中の島沿岸に向け流れている。したがつて，島前と島後の沿岸流は隠岐水道により遮断され連続性がないから，島後では供試魚の北～東岸への移動は認めがたく，水道南下流分派の移流する南岸のみに捕獲されるものと考えられる。南流主流によるものは結局，島前沿岸を迂回する結果となつて，その移動方向は流れに規制されている。

3. 魚体の範囲

放流魚の体長範囲は Fig. 1 のとおりで体重 0.8～1.0kg のものである。放流時期 (5, 6 月) におけるこ

れらの供試魚が1年魚であることは，ブリの産卵および対島暖流水域における稚魚の出現，分布状況からも明瞭である[8]。再捕魚の体重範囲は 0.8～2.0 kg の間で尾叉長はほぼ 50 cm までのものであり，全長 57 cm 以上ならびに3年魚として捕獲されたものはなかつた。

要　　約

1958 年5月から 1959 年6月にかけて島根県沿岸でブリ若年魚の標識放流試験を実施し，つぎの結果を得た。

1) 従来のブリ若年魚放流試験成績と異なり，再捕率が高く経過日数の割合も中間期 53%，長期 32% と長期間にわたるものが多かつた。

2) 移動範囲は狭く，ほとんどのものが放流海域内で再捕された。

3) 再捕魚は沿岸から 4～5 浬以内の湾内，浅瀬または礁（グリ）で周年にわたり捕獲された。

4) 移動状況は沿岸流と合致している。

5) 再捕魚は 1，2 年魚で，3 年魚として再捕されたものはなかつた。

本文を終るに当たり，御校閲を賜わつた日本海区水産研究所長内橋潔博士，調査に当たつて御高配をいただいた神藤正場長，日本海区水産研究所浦郷支所長浜部基次技官ならびに清水虎男技官に厚く御礼を申し上げます。

文　　献

1) 丸川久俊・神谷尚志：重要魚の標識放流成績，水試報，No. 1 (1930).
2) 木村喜之助：標識放流試験よりみたるブリの移動，水試報，No. 8 (1937).
3) 松下友成：ブリとその漁業，漁業科学叢書，No. 6 (1953).
4) 永田俊一：日本海におけるブリ標識放流結果について，日水研研報，No. 7 (1953).
5) 松下友成・伊東英世：サバとブリの標識再捕記録，漁業科学叢書，No. 5 (1952).
6) 児島俊平：隠岐島ならびに出雲海域における海流調査，島根水試事報 (1958).
7) ——：隠岐島周辺におけるスルメイカの漁況学的研究—Ⅲ．日水会誌，**25** (4)，(1959).
8) 内田恵太郎・道津喜衛：対島暖流水域の表層に現われる魚卵・稚魚概説，対島暖流開発調査報告書 (2)，水産庁 (1958).

Co^{60} 腹腔内標識によるニジマス稚魚の天敵の追跡

檜山義夫・能勢幸雄・清水　誠・松原純子*

(1960 年 12 月 7 日受理)

ON THE PREDATION OF RAIN-BOW TROUT FRY TRACED BY CO^{60} BODY CAVITY TAG.

Yoshio Hiyama, Yukio Nose, Makoto Shimizu and Junko Matsubara*

At about noon of May 1st, 1960, 191 individuals of rain-bow trout fry, in which 39 fish had a Co^{60} pin radiation source (about 100μc) inserted in the abdominal cavity of each, were liberated close to the midpoint of the same stream that was used in the last Zn^{65} injection experiment (Fig. 1). Since that afternoon, the vicinity around the stream was monitored by Crystal Scintillation Survey Meter ($1\frac{1}{2}''$ NaI Crystal) and by G-M Survey Meter at least once a day, and the locations where the radiation sources were detected, were recorded on the map. (Fig. 1)

The recovery of these Co^{60} marked fry and the Co^{60} pins outside the liberated fry was done first from 9th to 11th of May and secondly from 26th to 29th of July. By these efforts, 36 pieces of Co^{60} pins were recovered in total. 1) 21 individuals of living fry carrying the Co^{60} pins inside their body (F in Fig. 1), 2) 10 pieces of the pins found on the bottom sand of the stream (S), 3) 5 pieces of the pins found in the holes under rocks (R).

About the 10 pieces of Co^{60} pins found on the bottom sand, it was thought to be caused by the predation and the excretion of adult trouts. If it was really so, the adult trouts had taken about 1/4 of the liberated fry within 8 days.

About the 5 pieces of the pins found in the holes under huge rocks, we could not think of any cause other than the result of the predation and the excretion of Japanese water shrew, *Chimarrogale platycephala*, nested in the experimental area (Fig. 2 and 3). The quantity of predation during 8 days by this mammal was estimated as about 1/8 of total fry liberated.

However, the predation by a wild bird, *Cinclus pallasii*, the most powerful predator in the last year's experiment, was not recognised, though a couple of this birds with two youngs were very often found flying in the experimental area.

One of the reason why the bird did not predate the fry, was thought to be that the size of fry liberated in this year (average 8 gr.) was much larger than that of last year (average 1.2 gr. for small sized group and 2.7 gr. for large sized group). Moreover, it might be caused by that the distance from the point of liberation to the nest of this bird in this year was farther than that of last year. The nest was found just above the point of liberation in last year, but was not found in and near the experimental area this year.

ま え が き

著者らは前報[1] において，渓流区に放流するニジマス稚魚に $^{65}ZnCl_2$ を注射し，これが食害によつて天敵に移行することにより，付近の放射能調査によつて天敵を追跡し，カワガラスと親マスが稚魚の天敵として大きな働きをしており，両者の食害数は放流初期（放流後約 2 カ月）の全減耗数の 94% に達すること，および，食害による減耗のうちカワガラスによる部分が 97% を占めていると計算した。

* 東京大学農学部水産学科 (Fish. Inst., Fac. of Agr., Univ. of Tokyo).

このように，$^{65}ZnCl_2$ 溶液を放流魚体に注射する方法はニジマス稚魚の天敵の追跡法として定性的にも定量的にも有効な方法であることが知られたが，この方法では，手あたり次第に付近の放射能調査をして天敵をすべて発見できるほど強い放射能は公衆衛生上から使用できないため，あらかじめ天敵と疑われる動物，あるいはその排泄物を採集し，サーベイ・メーターによりごく近くでこれらの放射能を検査し，さらにこれらを灰化して，微量の放射能を計測する必要があつた。このため，天敵と疑われていなかつた動物，あるいは採集し得なかつた動物で，微量の放射能しかないため野外で検出されなかつた稚魚の天敵が前記の二種の動物以外に存在していたかも知れない疑いを残していた。

このため，さきに檜山・市川[2]によつて室内実験で確められた医療用の Co^{60} 針を稚魚の腹腔内に挿入する方法を用い，遠隔からその存在位置がたやすく確認できる方法を採用し，前年度にひきつづいて放流ニジマス稚魚の天敵の追跡を試みた。その結果，前年度確められたカワガラス，親マス以外に，この方法によりカワネズミ（*Chimarrogale platycephala*）も稚魚の天敵であることを確め得たので，ここに報告する。

実験に使用した渓流は前年度同様，神奈川県中津川支流滝沢渓流であり，昨年度の実験区 330 m 流域のほぼ中央にダムが作られたので，その下流，昨年の約 1/2 の流域を使用した。実験区は禁漁区とし，実験区の下端にヤナを設けて実験魚の逸脱を防止したことなど危険防止については，すべて前年度同様の処置を施した。また，放射性同位元素の野外使用については原子力局放射線安全課に届け出た。

本文に入るに先立つて，実験区の使用，稚魚の入手，その他の面でご協力を得た淡水研小野寺好之河川部長，カワガラスの調査に同行して下さつた京都大学の石原忠一氏，カワネズミの同定をして下さつた東京科学博物館の今泉吉典博士，野外調査に協力して下さつた本研究室の安田富士郎，東海大学の四本安邦の両氏および密漁の看視その他労力の提供など応援を惜しまれなかつた地元津久井漁業協同組合の鵜沼保治，荻田藤七氏などの各位に深謝の意を表したい。

なお，本研究の費用の一部は農林省応用研究費によつた。

調 査 の 方 法

1) Co^{60} による標識

実験に用いた放射線源は医療用 Co^{60} 針をペンチで切り，長さ約 1 mm，直径約 0.8 mm のピン状の約 100μc のもので，発見回収の容易と溶解防止のため赤いプラスチック・チューブおよび白エナメルで被覆を施した。

実験に用いたニジマス稚魚は 191 尾（平均体長約 9 cm (6.9～11.0 cm)，平均体重約 8 gr (3.5～15.0 gr)），そのうち 39 尾に上記の Co^{60} ピンを 1 個づつ，腹壁をメスで小さく切り，ピンセットで腹腔内に挿入して標識魚とした。Co^{60} の挿入は 4 月 29 日に行なつたが，放流まで死亡も脱落もなかつた。

実験区への放流は 5 月 1 日正午に行なつたが，放流は C 19 から C 17 までと，C 15 から C 14 に至る 2 個所に分けて，それぞれ標識魚と非標識魚をほぼ 1 : 5 の割合に混ぜて各数尾づつ分散させて行なつた (Fig. 1)。

2) Co^{60} 標識の検知

Co^{60} 標識魚の検知にはクリスタル・シンチレーション・サーベイ・メーター ($1^1/_2''$ NaI crystal，東京原子工業 KK 製）と G-M サーベイ・メーターの双方をいずれもヘッドを水密にして用いた。前者はきわめて強力な検知力を持ち，空気中では 30 m，水中でも 1 m 離れてこの Co^{60} 標識の存在を知ることができた。しかし，反面あまり鋭敏すぎるため，水中に 2 個の Co^{60} 標識があつた場合，その間隔が 1 m 以下であるとそれが 2 個と区別することが難しかつた。このような場合には G-M サーベイ・メーターを併用して Co^{60} 標識数を数える助けとした。しかし，甚だしく近接している時にはこれでも困難であつた。さらに，巨大な岩石の後，あるいは下に Co^{60} 標識が入りこんだような場合は岩石の放射線遮蔽力が大きいため，岩石のまわりをいろいろな方向から検知する必要も生じた。

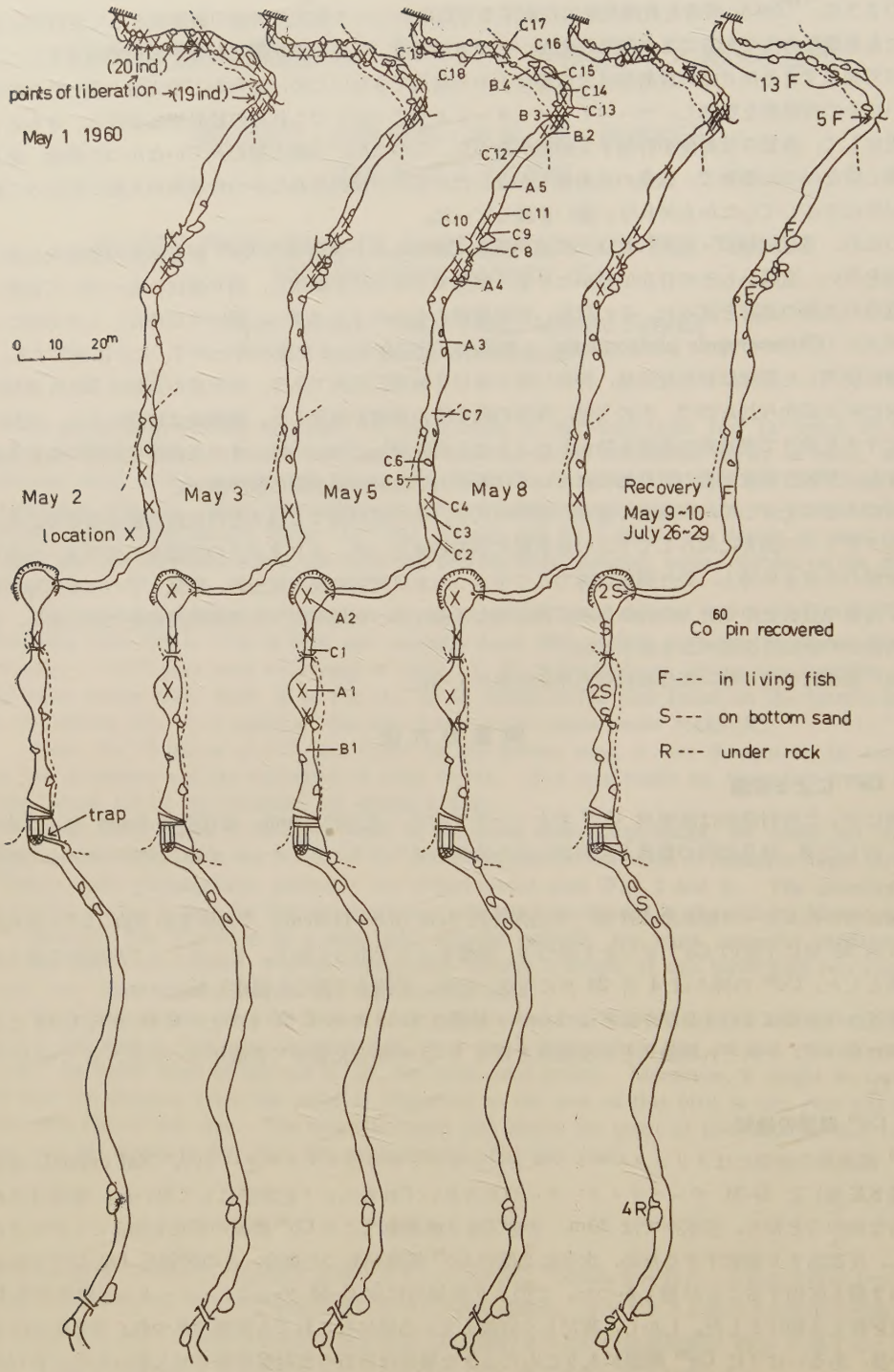


Fig. 1. The points where the rain-bow trout fry liberated (→), the locations where the radiation sources were detected (×) and the locations where the Co^{60} pins were recovered (F,S,R).

Co^{60} 標識魚の探査

前述のように，シンチレーション・サーベイ・メーターと G-M サーベイ・メーターの併用によつて Co^{60} 標識魚の水中における存在位置の確認はきわめて容易であつたので，実験区の下流から上流にいたる調査の都度，その存在位置を地図上にマークした (Fig. 1)。このような探査は5月1日正午に放流した後，その午後2時からはじめて放流後7日目の5月8日まで毎日継続され，毎日図上に Co^{60} 標識の存在位置とその個数が記録されたが，Fig. 1 には煩雑をさけるため，その一部のみを示してある。

Fig. 1 で明らかなように，放流後 3～5 時間後に僅かではあるが，早くも稚魚の分散の起つていることが認められ，放流後 20 時間には実験区全体に稚魚の分散が拡がつていることがわかる。(これらの短時間内では，食害によつて Co^{60} 標識の分散が起つたと考えないですむと思えるので。) このように，放流稚魚がそれぞれの縄ばり形成のため分散するスピードがきわめて速やかであることが認められるとともに，分散が必らずしも下流方向にのみ起らず，わずかながらも上流に向けて起つている点が認められた。すなわち，最大で上流に向つて 10m，下流に向つて 150m の移動が 20 時間内に起つた。ただ上流に向つては，今年 C 19 の上に淵改造のためのダムが設けられたため，稚魚のより以上の遡上が阻止されたものと思われる。

Fig. 1 は Co^{60} 標識魚のみについての記録であるから，標識魚 (39 尾) の全放流尾数 (191 尾) 中に占める割合からいつて，ここに記録された数のほぼ5倍がそれぞれの淵にいた稚魚数を示すと見て差支えなかろう。ただし，先にも述べたように，サーベイ・メーターの感度が良すぎて，2尾以上の稚魚がごく近接して遊泳していた場合には分離して2尾と数えられずに1尾と記録されたかも知れないし，また逆に水中で岩の下に入りこんだ1尾については異なつた方向から2度数えられた恐れもあつて，このような調査は場所については正確であるが，その数については正確なものであるとはいえず，1～2 割の誤差があつた。

また，いま一つ注意しなくてはならないのは，探査はある距離を距てて行なわれたために，水眼鏡などを用いてはつきりと魚影を確認し得た場合以外は，それが標識稚魚であるか，標識稚魚が親マスに食害されて親マスの体内に移つた標識を示すものか，さらにまた親マスその他の動物の消化管を通つてすでに排泄されて川底の砂に埋没してしまつたものかを区別しにくいという点である。こういう点で，この探査の方法は特別の考慮が必要だし，経験によつて改良されるべき点もある。この Co^{60} 標識の存在形態は次節 Co^{60} の回収状態とそれまでの探査結果を比較することによつて明らかとなるであろう。

Co^{60} 標識魚および Co^{60} 標識の回収

公衆衛生上からすべて Co^{60} 放射線源は回収しなければならない。そのため，Co^{60} 標識の回収はつぎの手順で行なつた。まず，探査の時と同様，シンチレーション・サーベイ・メーターと G-M サーベイ・メーターを用いて Co^{60} 標識の存在箇所を正確に検知し，それが水中である場合は電気ショッカー (D. C. 100V) の両極をその箇所をはさんで水中に挿入し，もしいれば，稚魚を仮死あるいは半仮死の状態にして流出せしめ，これを掬い網で採捕した。この方法によると覗眼鏡で認知できないような大きな岩の下にひそむ魚でも容易に岩の下から採集でき，回収はきわめて能率的であつた。そして，一つの場所で完全に放射能がなくなり，完全に Co^{60} 標識魚が回収されたことが確められるまでくりかえして実施した。場所によつては，放射線源の存在が認められて，くりかえし電気ショッカーの使用を試みても魚が現われなかつたことがあつた。このような場合には小形のスコップを用いて検知器の指向する方向の川底の砂をすくい上げることをくりかえし，砂粒といつしよに Co^{60} 標識だけを回収したり，これを磁石に吸いつけてとることも行なつた。

以上のような Co^{60} 標識回収作業が5月9日から 11 日まで，実験区の上端から下端へくりかえして実施され，この期間に次のような回収を見た。(回収地点は Fig. 1 に示してある。) 1) 体内に Co^{60} 標識をもつ稚魚 21 尾 (F)，2) 川底の砂のなかに放出された標識だけを回収したもの4個 (S)，計 25 個である。残りは，おそらく生きている魚とは考えられなかつたが，回収の困難な川岸の巨大な岩の下であるとか，深い淵 (A 1) であるとか，塩川滝の滝壺のなかであるとかで，回収装備を整えての後日の回収を期して5月の調査は以上で打切つた。

公衆衛生上からも放射線源を放置しておけないので，3カ月後の7月26日に残つた Co^{60} 標識を回収するため，ゴムボート，ロープ，磁石，シャベル，ツルハシなどを持参して現地におもむき，滝壺の底，川底の砂のなかから6個 (S)，川岸の上にある二カ所の大きな岩の下の細い孔のなかから5個 (R) の Co^{60} 標識を回収した。回収地点は Fig. 1 にあわせて示しておいた。残りの3個（放流の 7.7%）は実験区外上下流数km の範囲までの精力的な探査にもかかわらず遂に回収できなかつた。

稚魚の食害

前記の回収結果をまとめると次のようになる。39 の Co^{60} 標識のうち，1) いまだ稚魚の体内に残つていたもの 21 個 (F)，2) 川底の砂のなかから拾われたもの 10 個 (S)，3) 川岸の上にある大きな岩の下の細い孔から掘り出されたもの5個 (R)，4) 行方不明3個という結果になる。

川底の砂のなかから拾われた 10 個の Co^{60} 標識は，今年も親マスがこの流れに数多くいた（しかし，どれにも放射能はなかつた）ので，標識稚魚が親マスに食害されて，親マスの排泄物として川底に沈積したものとしか思われない。もし，全部がそうなら，5月1日から5月8日までの8日間に放流稚魚の約1/4が親マスによつて食害されたことになる。

川岸の上にある大きな岩の下から掘り出された5個の Co^{60} 標識はカワネズミ (*Chimarrogale platycephala*) が食害し，その巣のなかに排泄したものとしか考えられない。前年度および今年度延べ200個目（1日の設置数20個）をこえる trap には遂に一度もかからなかつたカワネズミが今年度には電気ショッカーや手づかみで実験区内および実験区外の上流で各1匹づつ採捕されたし (Fig. 2)，調査中その姿もしばしば見られている。

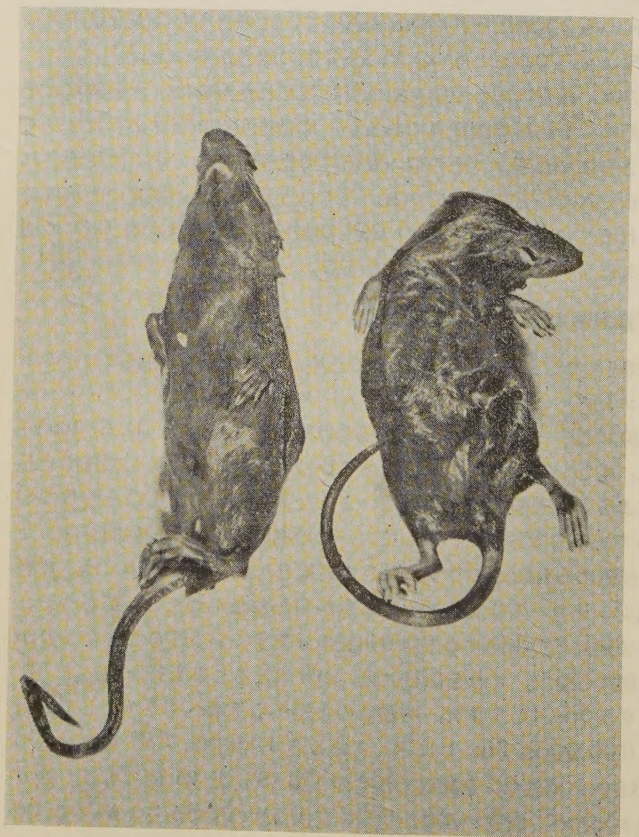


Fig. 2. Japanese water shrew, *Chimarrogale platycephala*, taken from the Takisawa brook.

カワネズミのものと思われる巣は A4 淵の左岸に1箇所とヤナの下の右岸に1箇所 (Fig. 1 の R と記録されたところ) 発見されたが，大きな岩と岩の間を通る精巧なまた複雑に屈曲した通路をもち，2個の出入口はいずれも川の水面から 1/2m くらいの高さの所に開いていた (Fig. 3)。ヤナより下に魚が流下することはまず考えられないので，後者の巣のカワネズミはヤナや A1 淵まで魚をとりに行つたのではないかと思われる。

カワネズミの食害の大きさは放流稚魚の 1/8 にあたり，前年度の $^{65}ZnCl_2$ 注射による方法で説明できなかつた 100 尾足らずの減耗もカワネズミの食害によるものと判断していいかも知れない。$^{65}ZnCl_2$ 使用のさいには，その使用量が少ないため放射線量が弱く，その下にカワネズミの巣のあるような大きな岩を通しては検知されなかつたのであろう。

さて，ここに最も奇妙に思われる事実は，本年度の実験では前年度あれほど大きな部分を占めたカワガラスによる食害

が全く見られなかつたことである。5月および7月の調査に再度同行して下さつた京都大学の石原忠一氏の観察によれば，2羽の若鳥を伴なつた一番いのカワガラスが実験区を索餌区域として飛来はしているが，遂にその巣らしきものは発見し得なかつたとのことである。昨年度は放流地点である江の島滝の滝壺上の崖にカワガラスの育雛中の巣があつた事実と比較して，巣から放流地点までの距離がいちじるしく遠くなつたことが稚魚の食害を免からしめたのかも知れない。また実験区より上流にカワガラスの糞の密度の大なるところがあつたが，今年はそこに自然発生したマスの小さい稚魚が多く見られたし，本年度の放流稚魚の大きさが昨年度に比較していちじるしく大きかつた（平均 8gr.，昨年度は小型 1.2gr.，大型 2.7gr.）ことなどの事情のちがいは食害の様子に相違を起させた有力な原因と思われる。このことは，この渓流における過去3カ年の放流稚魚の急激な減耗が放流初期のまだ魚体がいくらも成長しない時期に起つている[3-5]ことと考えあわせて，渓流区へ稚魚を放流するさいには放流稚魚の魚体の大きさを考慮し，またその放流地点をよく吟味する必要のあることを示唆しているように思われる。

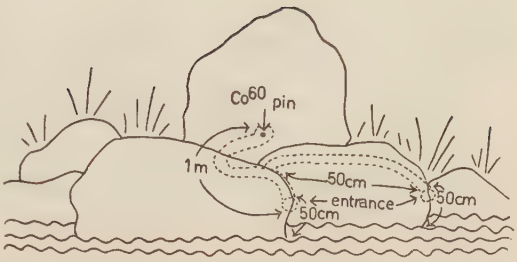


Fig. 3. A nest supposed to be of water shrew where Co^{60} pins were found.

$^{65}ZnCl_2$ 法と Co^{60} 法との比較

前年度用いた $^{65}ZnCl_2$ 溶液注射による方法と，今回の Co^{60} 針腹腔内挿入標識法を比較すると，それぞれつぎのような長所，欠点のあることがわかる。

1) Co^{60} 法は $^{65}ZnCl_2$ 法にくらべて公衆衛生的な見地から，その回収にははるかに多くの労力を必要とする。後者の半減期は短く，放置しておいても何らの支障はない。

2) しかし，Co^{60} を用いる方法は，この報告にも述べたごとくきわめて効果のある方法であり，$^{65}ZnCl_2$ では発見できなかつたカワネズミの食害の事実を確め得た。けれども，食害量を推定するのには $^{65}ZnCl_2$ 法のほうがまさつている。

3) Co^{60} 法は，食害した動物体中に標識の滞留している時間がきわめて僅かなので，いつたんその体外に排出されてしまうと，害敵の生態に関する知識にもとづき，推理をすすめる以外に，何の動物によつて食害されたかを知るキメ手がない。Zn^{65} 法は放射能が害敵の体中に長くとどまるから，その体か，排泄物を採集することさえできれば正確にその種類が認知できる。

4) Co^{60} 法は，天敵の追跡のほか，放流直後の標識魚そのものの移動，再分布，縄ばりなどについて知ることができる。

これらの経験から，この二法の併用も，また他の radio-isotope を他の方法で用いることも考えられるが，要はその区域と，魚と，考えられる天敵の生態学的特性によつて，用いる方法を撰択すべきである。

文　　献

1) 檜山義夫・能勢幸雄・清水　誠・松原純子・小野寺好之・児玉康雄・鈴木規夫：放射性同位元素によるニジマスの天敵の追跡．本誌，**26** (9)，863～867 (1960).
2) 檜山義夫・市川竜資：放射性コバルトによる魚類標識の研究．第1回アイソトープ会議，アイソトープ利用総覧，554～555 (1956).
3) 神奈川県水産指導所：河川における養殖マス類の混合放流に関する研究-Ⅰ．1～24，同所（プリント）(1958).
4) 同上：同上-Ⅱ．実験第2年の諸相ついて，1～16，同所（プリント），(1959).
5) 同上：同上-Ⅲ．流量と生体量，（附）捕食による減耗，同所（プリント），(1960).

中西，および南西太平洋におけるキハダの遊泳層の海流域別季節変化

中込 淳

(1960 年 12 月 14 日受理)

SEASONAL VARIATION OF SWIMMING LAYER OF YELLOWFIN TUNA BY AREA OF DIFFERENT CURRENTS IN MID-WESTERN AND SOUTHWESTERN PARTS OF THE PACIFIC OCEAN

Jun NAKAGOME*

The present author studied on seasonal variation of swimming layer of yellowfin tuna by area of different currents in the mid and southwestern parts of the Pacific Ocean. The results are as follows:

1) Swimming layer became shallowest (about 110 m) in June and deepest (about 145 m) in December of a year in areas of the North Equatorial current and the Equatorial Counter current (N). And it tended to rise in the spring and sink in the fall.

2) Swimming layer became shallowest (about 110 m) in May and deepest (about 145 m) in November in the South Equatorial current area (M) north of the convergency line (10° S). And it tended to rise in winter toward spring and sink in summer toward autumn.

3) Swimming layer in area M was a little shallower than is mentioned in literature No. 1 throughout year and the month when swimming layer was shallowest and deepest respectively in area N came a little later than in area M.

4) Swimming layer became shallowest in March (about 105 m) and October (about 90 m) and deepest in January (about 130 m) and June or July (about 135 m) of a year in the South Equatorial current area south of the convergency line. And it tended to rise and fall periodically twice a year.

5) Swimming layer in area S was shallower than in areas N and M throughout year.

1. 緒 言

著者は，過日，カロリン，マーシャル諸島周辺におけるキハダ，メバチ，クロカワの遊泳層の季節変化について報告した[1]。その後，同海域，および南西太平洋における同資料が著しく増加したので，水深別漁獲率からキハダの遊泳層の海流域別季節変化を調べたところ，興味ある結果を得たので報告する。

発表に当たり，御指導，御べんたつ下さつた神奈川県水産試験場永井三夫場長，御指導下さつたミラーフリーマン出版社酒井謙二氏に対し，衷心より謝意を表する。

2. 資料および方法

鈎別の漁獲率は釣獲率（鈎 100 本当りの漁獲尾数）を用い，鈎数および鈎別漁獲尾数は文献 2～53 の調査結果を使用した (Table 1)。

鈎別水深は吉原の計算式[54]により算出した。

すなわち，

* 神奈川県水産試験場 (Kanagawa Pref. Fish. Exp. Stat., Misaki, Miura, Kanagawa).

Table 1. Literature number by sub-area and month.

Area / Month	N*	M*	S*
Jan.	3, 4, 6, 8, 14, 15, 18	22, 25, 26, 28, 30, 36, 36	28, 28, 44
Feb.	3, 14, 18, 20	25, 27, 33, 34, 35, 36, 37	47, 53, 53
Mar.	5, 20	25, 29, 36, 36, 36, 47	47
Apr.	6, 19, 26	12, 26, 39	52
May		31, 34, 52	
June	11, 23	25	46
July	23	23, 25, 34, 39	48
Aug.	16	7, 41	25, 38, 50
Sep.	2, 3, 4, 10, 16, 16, 24, 25	2, 21, 39	38, 38, 40
Oct.	3, 6, 21, 22, 23	4, 36, 36, 38, 39	38, 38, 43
Nov.	13, 24	4	42, 44, 45
Dec.	3, 4, 9, 13, 13, 17, 26	6, 23, 25, 32, 49	28, 28, 43, 51

* show in Fig. 1.

最深部の鈎の水深 $= h_a + h_b + l(\sqrt{1+\cot^2\varphi_0} - \cot\varphi_0)$

各鈎の水深 $= h_a + h_b + l(\sqrt{1+\cot^2\varphi_0} - \sqrt{(1-2j/n)^2+\cot^2\varphi_0})$

ただし h_a; 枝縄の長さ

h_b; 浮縄の長さ

l; 幹縄の1鉢の長さの 1/2

n; 1鉢の浮縄と枝縄，枝縄と枝縄との間の間隔数

j; 1鉢の一方の端から一連番号を記した場合の各鈎の番号

φ_0; 浮縄結着点の幹縄と水平線との角度で，短縮率 k より求める。

$$k = \frac{(\text{投縄時の船速}) \times (\text{投縄時間})}{(\text{幹縄1鉢の長さ}) \times (\text{鉢数})}$$

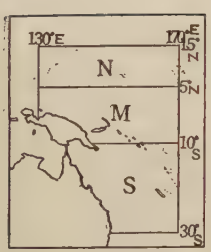


Fig. 1. Sub-areas investigated and indices thereof.

上記の計算に必要な数字は，文献2～53より引用して算出したが，神奈川丸1955年7月の航海の投縄時間については神奈川県三崎水産高等学校石橋正教諭より借りた漁撈日誌より算出，共栄丸，千潮丸，若千葉丸の幹縄，枝縄，浮縄の長さについては千葉県安房水産高等学校に問い合わせて得た数字を使用した。調査した海域は Fig. 1 に示す。

3. 結果および考察

月および海流域ごとの，航海別，水深別釣獲率は Fig. 2 に，また，釣獲率の水深別散らばりが比較的大きいので解り易くするため，月および海流域ごとの，水深 10m 別平均釣獲率を Fig. 3 に示した。

Fig. 3 に示した平均釣獲率より，同図に示したような遊泳層が考えられる。しかし，この結果のみでは誤差をともなうので，この結果を基にして，Fig. 2 の釣獲率より遊泳層を推定すると，同図に示したような遊泳層が考えられる。

そこで，この曲線の頂の水深を遊泳層の中心水深と考えて，遊泳層の海流域別季節変化を示すと，Fig. 4 のようになる。

すなわち，5～15°N の赤道反流および北赤道流域では，6月に最も水深が浅く約 110m，12月に最も深く約 145m で，春季浅層へ秋季深層へと移動している。

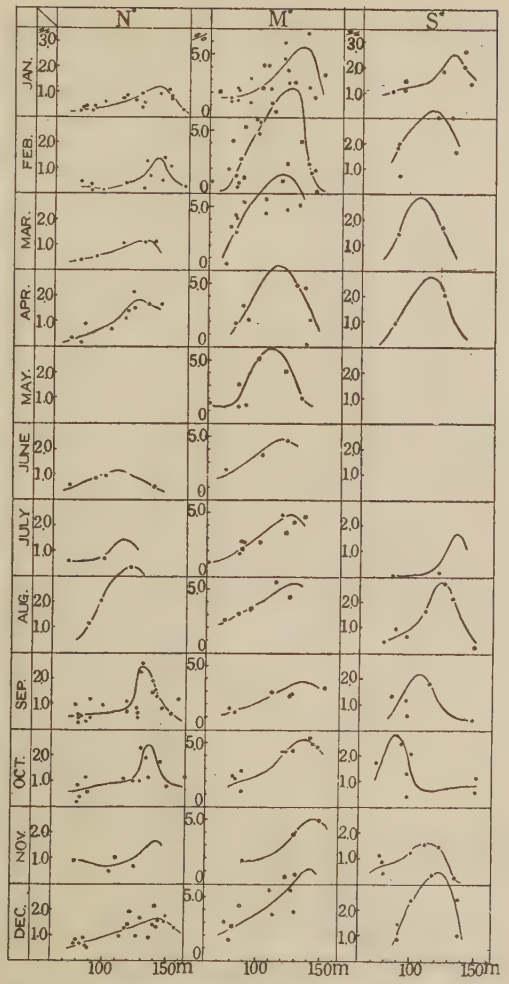


Fig. 2. Rates-of-catch as per water depth and graphs showing the vertical distribution by sub-area and month.

* show in Fig. 1.

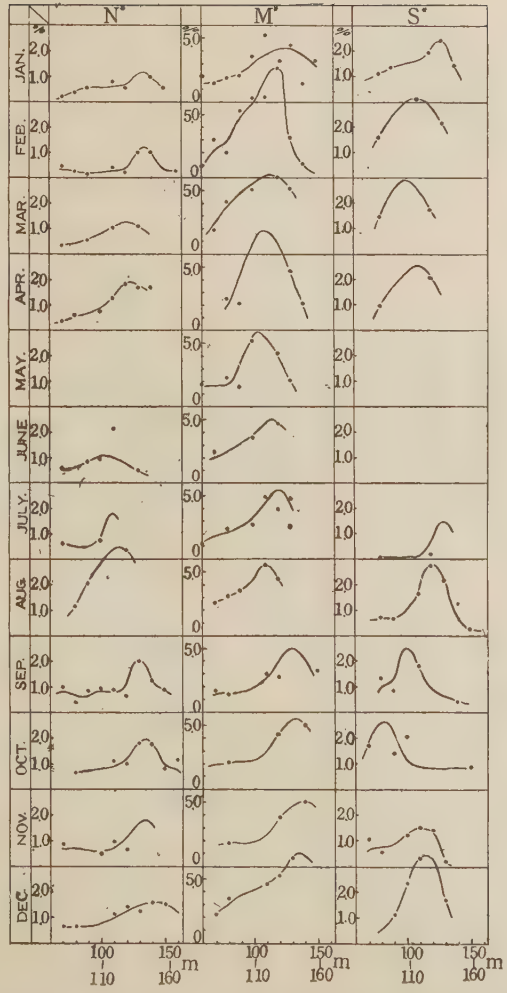


Fig. 3. Mean rates-of-catch as per water depth and graphs showing the vertical distribution

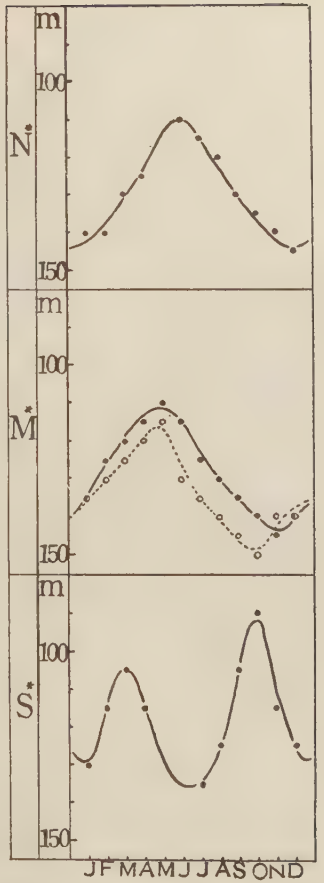


Fig. 4. Seasonal variations of swimming layer of yellowfin tuna by sub-area.

* show in Fig. 1.

···○··· line by literature No. 1

J ; Jan. M; May S ; Sep.
F ; Feb. J ; June O; Oct.
M; Mar. J ; July N; Nov.

5°N～10°S の収斂線[55]以北の南赤道流域では，5月に最も水深が浅く約 110m，11 月に最も深く約 145m で，冬，春季浅層へ，夏，秋季深層へと移動している。この結果，著者のさきの報告[1]より全体的に若干浅層に位置しているが，その変化はほとんど一致している (Fig. 4)。また，赤道反流および北赤道流域に比較し，最浅層に至る月，および最深層に至る月がおよそ1カ月早くなつているが，変化はほとんど一致している。

これに対し，10～30°S の収斂線[55]以南の南赤道流域では，上記海流域と全く異なり，3月と 10 月，すなわち南半球における秋季および春季に最も水深が浅く，3月に約 105m，10 月に約 90m，また1月と6または7月，すなわち，南半球における夏季および冬季に最も水深が深く，1月に約 130m，6または7月に約 135m で，水深は全体的に上記2海流域より浅く，また，年2周期の移動を行なつている。

4. 摘　　要

中西，および南西太平洋におけるキハダの遊泳層の海流域別季節変化について，水深別釣獲率より調べたところ，つぎのような結果を得た。

1) 赤道反流および北赤道流域では，6月に最も水深が浅く約 110m，12 月に最も深く約 145m で，春季浅層へ，秋季深層へと移動している。

2) 収斂線以北の南赤道流域では，5月に最も水深が浅く約 110m，11 月に最も深く約 145m で，冬，春季浅層へ，夏，秋季深層へと移動している。

3) 収斂線以北の南赤道流域の結果は，文献 1) の結果より全体的にやや浅層に，また，赤道反流および北赤道流域よりおよそ1カ月前に，それぞれずれているが，変化は，ともに，ほとんど一致している。

4) 収斂線以南の南赤道流域では，3月と 10 月，すなわち南半球における秋季および春季に最も水深が浅く，3月に約 105m，10 月に約 90m，また1月と6または7月，すなわち南半球における夏季および冬季に最も深く，1月に約 130m，6または7月に約 135m で，年2周期の移動を行なつている。

5) また，収斂線以南の南赤道流域は，前記2海流域より全体的に水深が浅い。

5. 文　　献

1) 中込　淳：本誌，**23** (9)，1958.
2) 岩手県水試：南洋鮪漁業試験調査報告　28 年度，No. 3，1953.
3) 愛知県水試：業務報告書　32 年度，1958.
4) 〃　：海幸丸　33 年度調査航海概要，1959.
5) 宮崎県遠指：みやざき丸　33 年度第 10 次マグロ漁業調査報告，1959.
6) 〃　：みやざき丸　33 年度第8次マグロ漁業調査報告，1958.
7) 安房水産高校：乗船実習報告書　33 年度，1959.
8) 熊本県水試：指導船肥後丸の鮪漁業試験報告　30 年度第5次，1951.
9) 宮崎県遠指：まぐろ延縄漁業試験調査報告　30 年度第3次，1955.
10) 和歌山県水試：南洋まぐろ漁業試験調査報告　30 年度第4次，1955.
11) 熊本県水試：31 年度第2次遠洋鮪漁業試験報告書，1956.
12) 〃　：31 年度第1次遠洋鮪漁業試験報告書，1956.
13) 宮崎県遠指：まぐろ延縄漁業調査資料　30 年度第5次，1956.
14) 熊本県水試：指導船肥後丸の鮪漁業試験報告　30 年度第6次，1956.
15) 宮崎県遠指：まぐろ延縄漁業調査資料　31 年度第3次，1957.
16) 〃　：まぐろ漁業調査報告　32 年度第3次，1957.
17) 〃　：まぐろ漁業調査報告　33 年度第5次，1958.
18) 〃　：まぐろ漁業調査報告　32 年度第6次，1958.
19) 鹿児島県水試：事業報告　32 年度，1958.
20) 愛知県水試：業務報告　33 年度，1959.
21) 宮崎県遠指：業務概要　28 年度，1954.
22) 〃　：業務概要　30 年度，1956.

23) 安房水産高校：乗船実習報告 33 年度，1959.
24) 宮崎県遠指：業務概要 33 年度，1959.
25) 神奈川県水試：業務報告 27，28 年度，1954.
26) 〃 ：業務報告 30 年度，1956.
27) 宮崎県遠指：みやざき丸 33 年度第 9 次マグロ漁業調査報告，1959.
28) 那珂湊水産高校：鹿島丸漁業実習報告書 33 年度第 3 次，1958.
29) 和歌山県水試：南洋まぐろ漁業試験調査報告 30 年度第 4 次，1955.
30) 宮崎県遠指：まぐろ延縄漁業調査資料 31 年度第 3 次，1957.
31) 和歌山県水試：南洋まぐろ漁業試験調査報告 31 年度第 1 次，1956.
32) 宮崎県遠指：マグロ漁業調査報告 32 年度第 5 次，1958.
33) 鹿児島県水試：事業報告 32 年度，1958.
34) 神奈川県水試：業務報告 26 年度，1952.
35) 〃 ：業務報告 29 年度，1955.
36) 静岡県水試：事業報告 28 年度，1954.
37) 〃 ：事業報告 25，26 年度，1952.
38) 〃 ：事業報告 29 年度，1955.
39) 安房水産高校：共栄丸乗船実習報告書 33 年度，1959.
40) 静岡県水試：大富士丸濠洲東海域鮪漁場調査概況 No. 2，1958，1958.
41) 和歌山県水試：南洋鮪漁業試験調査報告 31 年度第 2 次，1956.
42) 南海区水研：珊瑚海マグロ漁場調査 第 1 さつま，1957.
43) 静岡県水試：調査報告まぐろ資源 大富士丸 34 年度第 19 次，1959.
44) 岩手県水試：南洋鮪漁業試験調査報告 28 年度，No. 5，1954.
45) 〃 ：南洋鮪漁業試験調査報告 29 年度，No. 4，1954.
46) 宮城県水試：南方鮪漁業試験調査報告書 第 3 号，1955.
47) 山口水産高校：練習船長芳丸実習報告書 31 年度第 3 次，1957.
48) 三崎水産高校：母船式鮪漁業実習報告書 30 年度，1955.
49) 千葉県水試：事業報告 昭和 27 年度 第 1 巻第 13 号，1954.
50) 和歌山県水試：事業報告 30 年度，1957.
51) 山口水産高校：練習船長芳丸実習報告書 31 年度第 1，2 次航海，1957.
52) 三崎水産高校：32 年度乗船実習報告書.
53) 安房水産高校：乗船実習報告書 33 年度，1959.
54) 吉原友吉：本誌，**16** (8)，**18** (5)，**19** (10)，1953，
55) 須田 明：鮪漁業，**43**，1957，

ヨシノボリの研究—II.
形態の比較*

水野信彦**

(1960 年 12 月 15 日受理)

STUDY ON THE GOBIOID FISH, "YOSHINOBORI" *Rhinogobius similis* GILL—II.
COMPARISON OF MORPHOLOGICAL CHARACTERS OF THREE ECOLOGICAL TYPES

Nobuhiko MIZUNO

Succeeding the life history study in the previous paper of three ecological types of "*Rhinogobius similis*", the morphological characters of adult fish are compared in the present paper.

In spite of the apparent similarities in the body form, the fluvial type is clearly different from the other two types (the amphidromous and lacustrine types) in the colour pattern on the body side (Fig. 1), and in the number of vertebrae, pectoral and first dorsal fin rays (Table 1; Fig. 2). Considering the more distinctive features in the size and number of mature eggs, in the size and developmental stage of newly hatched larvae as reported in the previous paper, it seems appropriate to conclude that the fluvial type is to be referred to the genus *Tukugobius* HERRE, 1927 instead of the genus *Rhinogobius*. The other two types, i. e., amphidromous and lacustrine types have no more distinctions with each other than intraspecific variations (Table 1; Figs. 2 and 3). Thus, the fluvial type is named as *Tukugobius flumineus* and the other two types retain the customary name *Rhinogobius similis* GILL.

前報ではヨシノボリの発育史・生活史についてのべ，生態的にみて，これには3つの型（両側廻遊型・湖沼型・河川型***）があること，そのうち河川型の発育史・生活史は他の2型にくらべていちじるしくちがつており，同一種とは考えられないこと，などを報告した。本報では成魚の形態的な特徴を比較した上で，その類縁関係を考察し，河川型は他の2型とは属を別にするのが適当であることをのべる。

調査にあたつては多くの方々の御援助を得た。京都大学の宮地伝三郎教授・森主一助教授は本研究を指導して下さり，河川生態研究グループの川那部浩哉・児玉浩憲の両氏は調査に協力して下さり，東京大学の冨山一郎教授，東京水産大学の高木和徳博士，淡水区水産研究所の小野寺好之氏ほか所員の方々からは数々の助言を頂いた。ここにしるしてあつく感謝の意を表する。なお研究の一部は文部省科学研究費と水産庁・淡水区水産研究所の京都府に対する委託研究費によつて行なつた。

I. 外部形態の比較

斑紋　ヨシノボリでもつとも眼につく斑紋は体側にある。それは3型とも変異に富んではいるが，両側廻遊型と河川型のそれはわりあいにはつきりと区別できる (Fig. 1)。すなわち前者の体側にならぶ約7個の大褐色斑は上下に長く，多くのものでは両側のこの斑紋が背方の正中線にあたるところでそれぞれ合一し，

---

* 報文内容の一部は昭和 34 年度水産学会年会で口頭発表した。

** 現在の所属は大阪学芸大学生物学教室 (Biological Laboratory, Osaka Gakugei Univ.)。 本調査の主要部分は京都大学理学部動物学教室で行なつた。

*** 両側廻遊型はふ化後まもなく海にくだり，幼期の一部をそこですごした後，川へ溯上して成長・産卵する。湖沼型と河川型はそれぞれ湖・池と川に陸封されているものを指す。

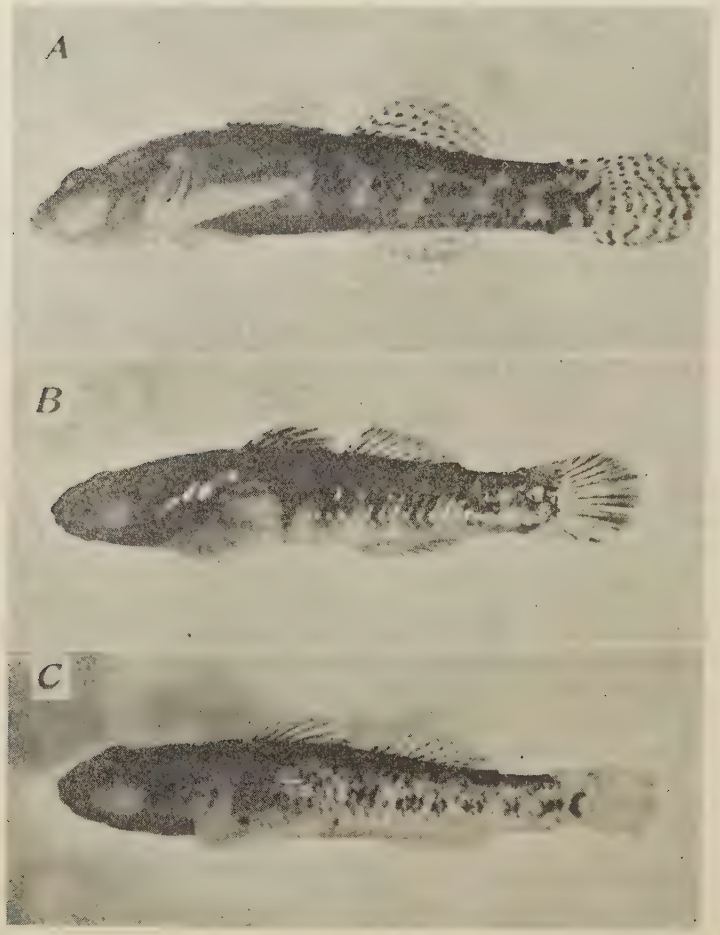


Fig. 1. 両側廻遊型 (A), 湖沼型 (B) および河川型 (C) の雌成魚
Female adults of amphidromous type (A), lacustrine type (B) and fluvial type (C).

鞍状斑紋となつている。後者にはこのようにはつきりとした横斑がみられず，体側の中心に沿つて，地色よりわずかに濃色の小縦斑が 5～10 個ならんでいるか，1 本の線または帯が体側の中央を前後に走つている。地色がきわめて濃いばあいとか，黒点病に強く犯されている個体では，これらの斑紋もほとんど見えない。湖沼型の斑紋はもつとも変化に富み，河川型のそれに似ているものがなかにはあるけれども，多くの成魚は両側廻遊型と同じような斑紋をもつている。

体各部の大きさの比　体長/頭長・体長/尾柄長・尾柄長/尾柄高・頭長/眼径について，3 型ともそれぞれ 14～31 個体づつ測定した。琵琶湖産の湖沼型は他の 2 型にくらべて，頭がやや大きいし，尾柄高は両側廻遊型がやや小さいなど，3 型の間に多少のちがいがみとめられた。しかし同じ型でも川によつて平均値にかなりのちがいがみられること，また平均値自体のふれが大きいことから，いずれの形質についても 3 型の間に統計的に有意の差 (95% の信頼度，以下いずれも同じ) はみとめられなかつた[8]。

ひれ条数*　3 型のおのおのについて約 70～200 個体調査した結果をまとめたのが Table 1 である。尻

* 計測法は松原 (1955) に従つた[2]。

びれ・胸びれ・尾びれの各ひれ条数の平均値には3型の間で有意の差がある。なかでも河川型は第2背びれ以外のすべてのひれ条数で，他の2型とは有意の差を示しており，とくに胸びれの条数は河川型が15～18本なのに，後二者は18～22本であり，18本のものは3型とも100個体中に2～4個体いるにすぎない (Fig. 2)。

Table 1. ひれ条数と脊椎骨数の平均値とその信頼巾（信頼度: 95%）．（）内の数字は調査個体数．
Average values and those confidence intervals (reliability: 95%) of numbers of fin rays and vertebrae. The numbers of examined specimens were put in parentheses.

		第1背びれ First dorsal	第2背びれ 2nd dorsal	尻びれ Anal	胸びれ Pectoral	尾びれ Caudal	脊椎骨 Vertebrae
ヨシノボリ *Rhinogobius similis*	河川型 Fluvial type	(215) 6.09±0.04	(120) 9.01±0.11	(115) 8.22±0.12	(204) 16.41±0.09	(73) 15.07±0.17	(105) 27.92±0.02
	両側廻遊型 Amphidromous type	(113) 5.98±0.02	(166) 8.99±0.04	(141) 8.90±0.06	(136) 19.71±0.14	(80) 15.66±0.12	(85) 26.00±0.00
	湖沼型 Lacustrine type	(113) 6.00±0.00	(105) 8.91±0.10	(93) 8.62±0.13	(134) 20.57±0.16	(206) 15.42±0.10	(161) 25.98±0.02
ゴクラクハゼ *Rhinogobius giurinus*		(20) 6.00±0.00	(20) 9.00±0.00	(20) 8.89±0.21	(20) 19.55±0.44	(20) 14.00±0.26	(25) 26.00±0.00

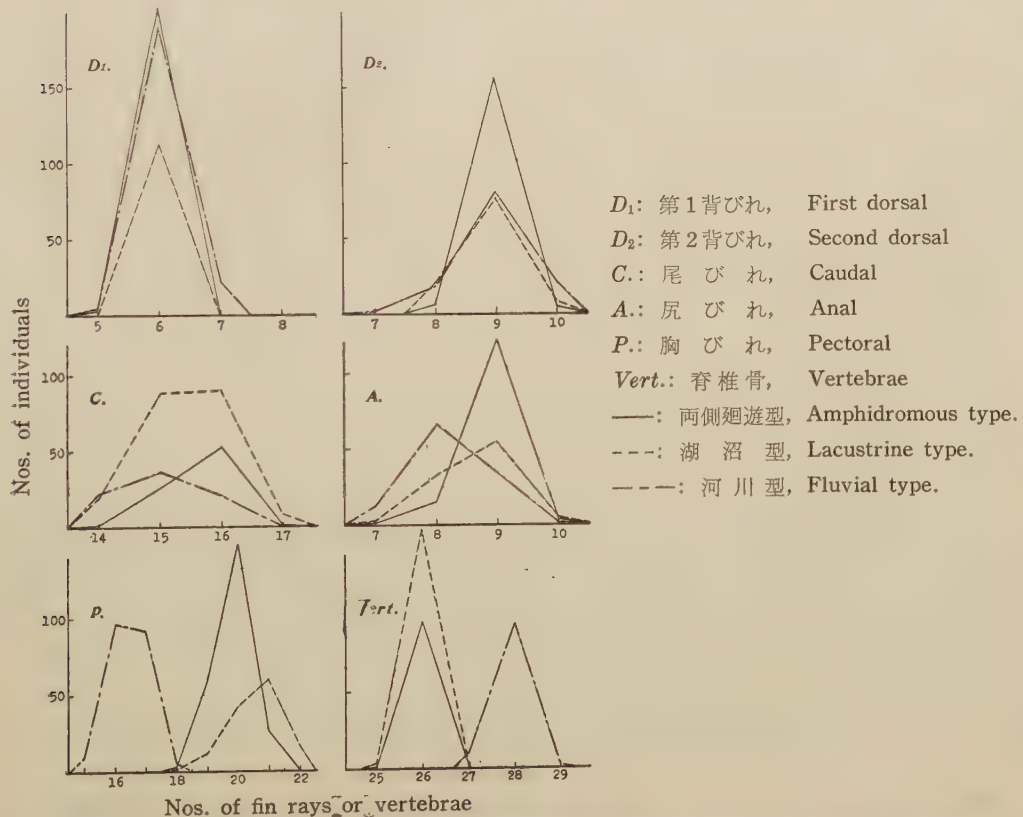
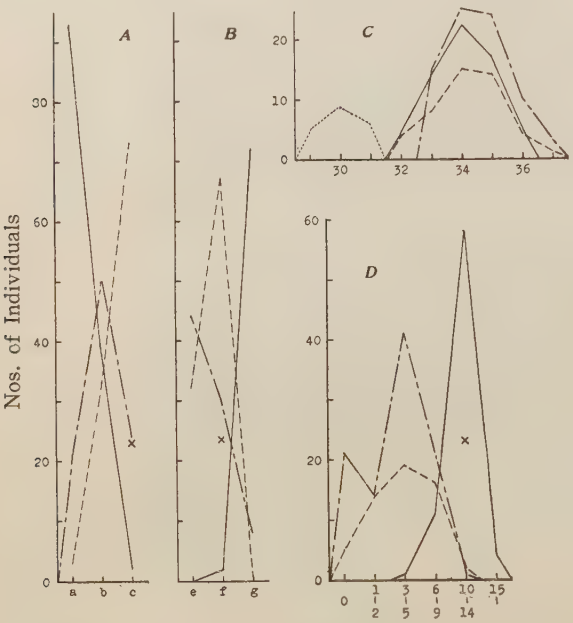


Fig. 2. ひれ条数と脊椎骨数の分布 Distributions of numbers of fin rays and vertebrae.

平均値も河川型の 16.41 ± 0.09 に対して 19.71 ± 0.14, 20.57 ± 0.16 とその間に大差がある。10 個体以上を調査したすべての川について，両側廻遊型と河川型を比較しても，また同じ川で採集した両者のそれをくらべても，差は明らかに有意であつた[8]。そのうえ第 1 背びれ条数 7 本のものが，河川型では 100 個体中約 10 個体はみられるのに，他の 2 型ではまつたくみられない (Fig. 2)。それにくらべれば，両側廻遊型と湖沼型のちがいはそう大きなものではなく，たとえ調査個体全部の平均値には有意の差があつても，個々の川と池で比較すると有意でないことが多かつた。

その他の形質　縦列鱗数は河川型が他の 2 型にくらべてやや多い程度で，大きなちがいはみとめられない (Fig. 3, C)。項部に鱗のないことは，従来からヨシノボリの主要特徴のひとつとされていた。その点 3 型とも同じであるが，そのうしろから第 1 背びれにかけての鱗の数には 3 型の間で多少の差があり，両側廻遊型でもつとも多くて，河川型ではもつとも少ない。湖沼型の状態は両者の中間にある (Fig. 3, D)。



A: 腹びれの形 (a: 左右に長い，b: 円形，c: 前後に長い)
B: 腹側の鱗 (e: 見えない，f: かすかに見える，c: はっきり見える)
C: 縦列鱗数
D: 第 1 背びれの前の鱗数
× と ……: ゴクラクハゼ。他の線は Fig. 2 のばあいと同じ。

A: Form of ventral fin (a: broaber than long, b: circular, c: longer than broad).
B: Scales on the belly (e: not seen, f: slightly seen, g: clearly seen).
C: Number of the scales in a lateral series.
D: Number of the scales before the first dorsal.
× or ……: *Rhinogobius giurinus*. The other lines show the same type as in Fig. 2.

Fig. 3. いくつかの形質の計測値の分布　Distributions of measurements of some characters.

一方，腹側の鱗は 3 型ともにあるのだが，肉眼によるとはつきりとは見えないことがある。河川型と湖沼型にはそのような個体が多いけれども，両側廻遊型ではよく見える (Fig. 3, B)。

本種の腹びれが丸くて，強力な固着器となつていることは，すでに HERRE が本種のいちじるしい特徴としてあげている。[3]腹びれがもつともよく発達したときは，左右に大きくひろがつただ円形となつている。幼魚のそれは前後に長い長円形で，ゴクラクハゼ成魚の腹びれに近い形をしている。前者のような腹びれは両側廻遊型に多く，後者のようなものは湖沼型に多い。河川型は両者の中間の状態にある (Fig. 3, A)。湖や池，とくに波のおだやかな池に生息している湖沼型成魚の腹びれが，他の 2 型ほどに発達していないのは，その機能から考えても当然といえよう。

体を支えるものとしては他に胸びれがある。流れの石の上にいるヨシノボリを観察すると，胸びれの下半分を石にピッタリと押しつけて，体を支えている。このような機能を反映して，この部分のひれ条は上半分のそれより太く，よく分枝している。しかし池にいる湖沼型の成魚では，胸びれのひれ条がすべて細く，あまり分枝していない。石の上に静止しているときも，頭を高くあげて，いわばソッとのつているにすぎない。胸びれや腹びれにみられる湖沼型の特異性も，幼魚期から成魚期にいたる行動様式がもたらしたものであろ

う。sensory canal pores の数と排列は TAKAGI[4] の調べた本種のそれと同じであり，3型の間でほとんどちがいがない。

II. 内部形態の比較

脊髄骨数　3型についてそれぞれ80～160個体調査した。両側廻遊型と湖沼型の間には差がないけれども，河川型とのちがいは大きく，このばあいには重なりはまつたくみとめられない (Fig. 2 と Table 1)。すなわち脊椎骨の基本的な数は河川型が 28 (腹椎 11+尾椎 17) であり，他の2型は 26 (10+16) である。同じ川で採集したものについても，この差は明らかにみとめられた[8]。

歯・舌咽骨・鰓その他　歯列はいずれも3列前後で，犬歯状の歯も多くの個体にみとめられる。しかし成魚においても個体間の差が大きく，生態型によるちがいははつきりとはみられない。

舌咽骨は3型とも単一型[5] のもので，河川型の舌咽骨角が他の2型よりやや大きい程度にすぎない。鰓はいずれも4枚であるが，鰓耙数は河川型の 2+5 に対して他の2型は 2+7～8 で，各鰓耙も河川型より長くて細い。

III. 考　　察

種の異同について　従来1種とされていただけに，3型とも似てはいるが，河川型は胸びれ条数・脊椎骨数・鰓耙数・第1背びれ条数・体側の斑紋で他の2型とはちがつており，とくに前2つの形質ではつきりと区別できる。外部形態だけででも胸びれ条数と斑紋を見れば，ほとんど間違いなく区別できる。前報で，卵の大きさ・体内卵数・ふ化直後の形態的特徴なども，河川型が他の2型とひどくちがつていて，この差を同一種内の変異と考えるのは無理であろうとのべておいた。これにくらべれば，両側廻遊型と湖沼型とは第1背びれの前や腹側にある鱗の状態と，胸びれ・腹びれの形にいくぶんのちがいがみられるだけで，両者の差はそれほど大きなものではない。卵の大きさや発育にともなう形態変化も両者はほぼ同じである[1]。すなわちこの両者の差は同種内の変異とみてよいが，河川型は明らかに種が別であるといえよう。脊椎骨数が変異することはよく知られていても，このばあいそれはわずかなものであり，地理的な変異もほとんどみとめられない。その上，産卵期がほぼ同じであるのに[1]，同じ地点で採集されたものでも，河川型と両側廻遊型でははつきりした差があるのであるから，脊椎骨数のちがいは環境条件によるものではない。

ヨシノボリと同属の別種であるゴクラクハゼの計測値を Table 1 と Fig. 3 に附記しておいたが，縦列鱗数以外は両側廻遊型・湖沼型の計測値とほぼ同じである。後頭部の鱗の状態と縦列鱗数がゴクラクハゼとヨシノボリの主要な区別点であることを考えても，河川型は種を別にすべきであろう。

従来，ヨシノボリが変異に富んだ種であるとして，(多少の疑問はもたれつつも) 1種であるとされていたのは，3型の一般的体制 (体各部の比や鱗の状態) が似ているうえ，それらが斑紋と同様に変異に富み，それに加えて，胸びれの条数があまり注意されなかつたためであろう。

後に述べるように，日本産のヨシノボリとして記載されたものの多くは (後にこれの synonym とされたものを含めて)，両側廻遊型か湖沼型にあたると思われるので，この両型には従来どおりのヨシノボリの名をあて，河川型は川に陸封されているという特異性を重視して，カワヨシノボリと名づけたい。

ヨシノボリとカワヨシノボリの類縁について　ハゼ類の種類間の類縁関係をくわしく調査したものとしては，高木の業績以外にないようである。それでは鱗や舌咽骨の形態，sensory canal pores の数や排列を精査することによつて，類縁関係が考察されている[4,5,6]。ヨシノボリとカワヨシノボリがともに櫛鱗を主体とし，単一型の舌咽骨をもち，sensory canal pores の数や排列もほとんど同じであることは前に述べた。一般的体制・歯列・犬歯の有無にも大きなちがいがない。その点，両者の類縁はそう遠くはなれたものではないようである。

しかし，ヨシノボリ属の種類は第1背びれの条数がすべて6であり[7]，調査された種の脊椎骨数はすべて 26 を基本としている (道津，未発表原稿)。これに対してカワヨシノボリは脊椎骨数 28 が基本であり，第

1背びれ条数7のものが 10 個体に平均1個体は含まれている。だからカワヨシノボリはヨシノボリ属の1種ではなく，ヨシノボリ属に近縁の属に入るものと見てよいだろう。1931 年までに記載された属[7]のうち，カワヨシノボリに対応するものとしては，ヨシノボリ属にごく近縁の *Tukugobius* HERRE 1927* 以外にはないようである。原記載によつて *Tukugobius* の3種やそれに近縁の種と比較した結果，カワヨシノボリを *T. flumineus* と命名した[8,9]。

以上をまとめると，従来のヨシノボリはカワヨシノボリ *T. flumineus* とヨシノボリ *Rhinogobius similis* GILL とに分けられ，後者に両側廻遊型と湖沼型の生態的な2つの型が含まれていることになる。

要　　約

ヨシノボリ *Rhinogobius similis* の3生態型について，成魚の形態を比較し，おたがいの関係について考察した。

1) 両側廻遊型と湖沼型の形態的なちがいは同種内の変異とみなせるが，河川型は胸びれ条数・第1背びれ条数・脊椎骨数・鰓耙数・斑紋が明らかにちがつており，卵の大きさや発育史にみられた特異性を考慮すれば，前2者とは種が別である。また脊椎骨数と第1背びれ条数からみて，河川型はヨシノボリ属に近縁の他の属に入る。

2) 両側廻遊型と湖沼型をヨシノボリ *Rhinogobius similis* とし，河川型をカワヨシノボリ *Tukugobius flumineus* と呼ぶことにした。

引 用 文 献

1) 水野信彦：ヨシノボリの研究—I. 生活史の比較．本誌 **27**: 6～11 (1961).
2) 松原喜代松：魚類の形態と検索．石崎書店，東京 (1955).
3) HERRE, A. W.: Science, **78**: 265 (1933).
4) TAKAGI, K.: J. Tokyo Univ. Fish., **43**: 97～126 (1957).
5) 高木和徳：魚雑，**1**: 37～52 (1950).
6) TAKAGI, K.: J. Tokyo Univ. Fish., **39**: 231～253 (1953).
7) KOUMANS, F. P.: A preliminary revision of the genera of the gobioid fishes with united ventral fins. Lisse (1941).
8) MIZUNO, N.: Mem. Coll. Sci. Univ. Kyoto, (B), **27**: 97～115.
9) ——: 同上，**27**: 116～119.

* HERRE は 1933 年にこれを *Rhinogobius* GILL, 1859 の synonym としている[3]。

魚類の游泳生態に関する研究—I.

トビウオの羅網方向について*

児 島 俊 平

(1960 年 12 月 28 日受理)

STUDIES ON THE LOCOMOTION BEHAVIOR OF FISHES—I. ON THE CONDITIONS OF FLYING FISH ENTANGLED ON THE TIDE WARD SIDE OR LEE TIDE SIDE OF THE NET.

Shumpei KOJIMA**

The author considered that the subject of behavior of oceanic surface fishes give clues to settle the problem of locomotion, gathering and scattering of fish school. How do fishes hold their position against movements of water masses and partial water currents ?

As only a few investigations regarding the above problem have been already carried, more investigations are expected in the near future.

The author examined the relationship between the side of the net on which the fishes were entangled and the direction of water current.

This gave the following results; ····

1) In the case of the investigation carried out during the daytime in the area over 30 miles off shore, over 95～99% of the number of the catches were entangled to the net on the tide ward side, and small number on the lee tide side.

2) In the allied case carried out during the daytime in the coasting area less than 15 miles off shore, in general, majority of the catches were entangled to the net on the tide ward side, as much as 78% and the rest from the lee tide side, however, very few cases should be high percentage on the lee tide side.

3) In the off shore area over 30 miles, the investigations during the daytime (involving the daybreak and twilight) were carried out in June and July. It is supposed that the flying fish would move keeping the direction of body parallel to that of the current.

海洋浮遊魚の游泳方向の問題は魚群の移動，集散に手がかりを与えるものであるが，水塊の移動や水塊中の流動に対して，魚が如何に定位するかは調査研究が少く，今後が期待されている。

筆者はトビウオ***について若干の知見を得たので報告する。

調 査 方 法

1959 年 6 月から 1960 年 7 月にわたり，島根県浜田沿岸ならびに沖合水域 (Fig. 1) でトビウオの流刺網試験を実施した結果から，流れの方向と魚体の羅網方向との関係を調べた。

刺網の投入は流向に対してほぼ直角に横切るよう投網する。しかし，海洋における流向の測定は漁場附近に定置されたシイラ****漬木を利用するほか，網と同時に測流板を投入して両者の流圧差から測定した。沿

---

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Shimane Pref. Fish. Exp. Sta. Shimane, Japan).

*** 漁獲の 90～95% はホソトビウオ *Cypselurus opisthopus hiraii* ABE, 5～10% がツクシトビウオ *C. heterurus doderleini* ABE であつた[1]。

**** 漬木の頭部は潮流に向つて定位している。

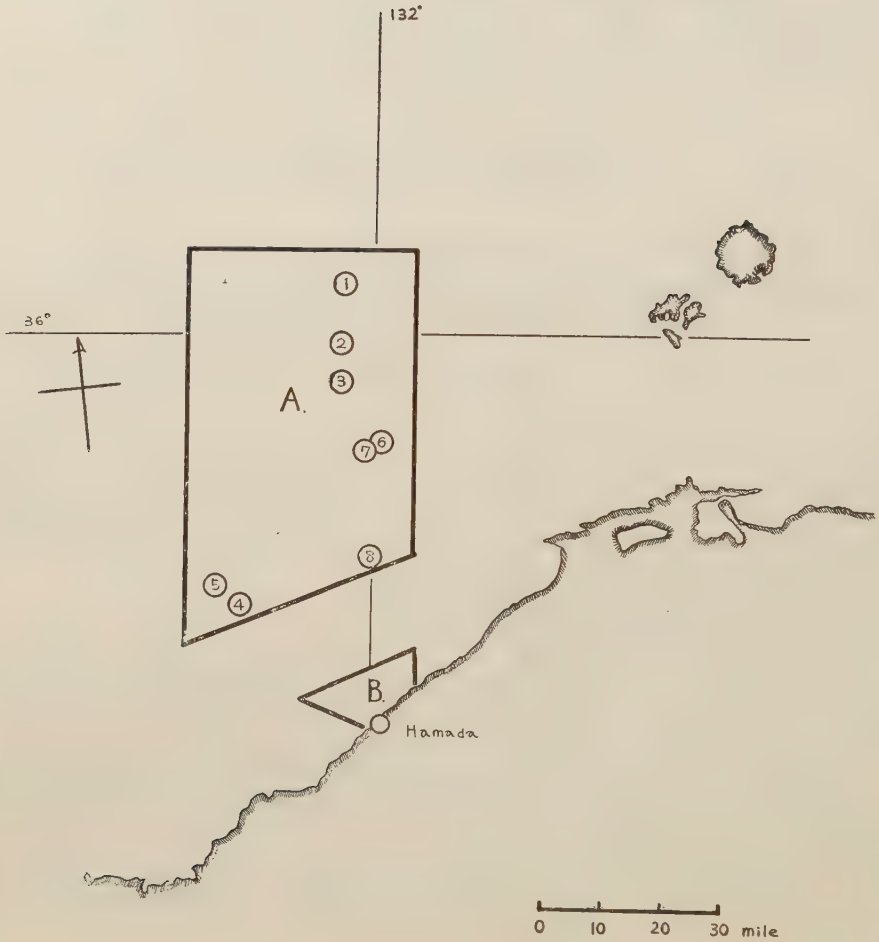


Fig. 1. Sea areas examined.
A····Offing area (off shore over 30 seamiles)
B····Coasting area (off shore less than 15 seamiles)

岸では交叉方位法によつた。投網後は羅網状況の観察や，流れ藻の排除のため時々網成に沿つて巡航した。網成は操業時間中に多少の凹凸をなしたが，流れに対して方向の逆転ならびに重積はみられなかつた。使用した網漁具1反の構成はアミラン糸（空色）210 デーニル2本，100 掛目，目合 3.4cm，長さ 50m，深さ 3.5m である。

調 査 結 果

調査の状況を一括表示すると Table 1, 2 のとうりである。投網後3～11時間後に揚網して，潮流の方向に対する羅網尾数を算定した。

1. 沖合における羅網方向

距岸 30 浬から 80 浬の水域において計8回の調査をおこなつた。網に対して流れと同じ方向から刺しているものを潮上側，流れに逆らつて刺しているものを潮下側とすると，ほとんどの魚体が潮上側から羅網し

Table 1. The test result on the drift net for flying fish in the offing area.

Station	Date	Fishing point		Surface water temperature	Sea conditions			
		Lat. N	Long. E		Weather	Wind direction and scale	Wave scale	Current direction
		degree minute	d. m.	°C				
1	24/ 6/1959	36−09	131−54	21.1	C	SW 3−2	2	
2	25/··/··	35−59	131−54	20.6	B	N 2	1	
3	25〜26/··/··	35−52	131−54	21.0	B	N 3	1	
4	2/ 6/1960	35−16	131−30	19.9 10m 19.1	B	S 1	2	
5	3/··/··	35−12	131−36	19.9	B	S 1	1	
6	1/ 7/··	35−40	132−00		B	N 2	3	
7	10/··/··	35−40	132−00	21.2 10m 21.3	r	NE 1	1	
8	10/··/··	35−20	132−00	22.0	r	NE 1	1	

Station	Fishing gear				Number of catches		
	Length of net used	Setting direction of net	Operation hours		Tide ward side	Lee tide side	Total
			Beginning of setting	End of hauling			
	meter		hour minute	h. m.			
1	1450		05−30	17−35	911	11(1.2%)*	922
2	1450		05−00	16−45	410	10(2.3%)	420
3	1450		18−00	05−30	495	15(2.9%)	510
4	1800		12−00	18−30	86	5(5.4%)	91
5	1800		05−10	14−20	365	13(3.4%)	378
6	250		13−20	16−10	4	0	4
7	250		06−00	09−15	0	0	0
8	250		12−30	14−40	7	0	7

* Percentages in relation to total number of catches.

ており，潮下側からは全漁獲の 0〜5% が刺しているに過ぎなかつた (Table 1)。試験結果が完全な任意標本であると仮定して，これらの属する母集団の羅網方向比率を推論[2] すると，2項分布についての 99% 信頼区間で潮上側の羅網率は近似的に 94% から 100% の間にあると推定できる。

1959 年 6 月 25, 26 日にわたつてほぼ同一水域の St. 2, 3 (Fig. 1) で昼間 (05^{00}〜16^{45}) と，夕まずめから翌朝 (18^{00}〜05^{30}) にかけて両者の比較試験を実施した。ただ1例の結果であるが総漁獲尾数は 420 尾と 510 尾で，潮下側からの羅網比率は 2.3% と 2.9% に過ぎず，羅網部位も水面から下方へ 1m 以内の処にほとんどが羅網していた。

2. 沿岸における羅網方向

距岸 15 浬までの水域で，主として 4〜5 浬の漁場で計 19 回の調査をした (Table 2)。同沿岸の流向は E方向への流れが強く，網は陸岸に向けて移流する場合が多かつたが，日によつては陸岸から沖合へ移流することもあつた。いづれの場合も網に対して流れと同じ方向から刺したものを潮上側とすると，総漁獲尾数

Table 2. The test result on the drift net for flying fish in the coasting area.

Number	Date	Fishing point		Surface water temperature	Current direction	Fishing gear				Number of catches		
						Length of net used	Setting direction of net	Operation hours		Tide ward side	Lee tide side	Total
		Lat. N	Long. E					Beginning of setting commerced	End of hauling completed			
		degree minute	d. m.	°C		meter		hour minute	h. m			
1	26/ 6/1956	35–04	132–05	23.5	→	1300	↘	12–00	17–15	553	81	634
2	17/ 7/··	34–57	131–58			950		08–00	17–00	844	94	938
3	27/··/··	34–59	132–02		→	1300	↗	07–50	12–00	15	18	33
4	27/··/··	34–59	132–02		→	1300	↗	11–00	16–00	21	20	41
5	28/··/··	34–59	132–02		↗	1300	↖	08–10	12–00	14	46	62
6	28/··/··	35–00	132–05		↗	1300	↖	11–00	14–50	15	5	20
7	30/··/··	34–59	132–02		↗	1300	↖	07–50	12–00	6	5	11
8	30/··/··	35–00	132–05	27.5	↗	1300	↖	11–00	15–00	1	1	2
9	4/ 6/1960	34–57	131–57	19.9	→	1800	↖	06–40	16–50	668	183	851
10	8/··/··	35–06	132–02	20.6		1800		08–30	11–40	9	38	47
11	8/··/··	35–06	132–02			1800		10–45	16–50	129	69	198
12	9/··/··	34–58	131–58		↗	1800	↖	10–17	17–15	386	98	483
13	10/··/··	35–05	131–55	20.6	→	1800	↖	08–00	10–30	80	27	107
14	16/ 7/··	34–58	132–01	25.9	↗	1000	↖	06–50	10–00	85	18	103
15	16/··/··	34–58	132–01		↗	1000	↖	09–20	13–20	154	24	178
16	17/··/··	34–57	132–01		→	1000	↗	06–30	09–40	41	52	93
17	17/··/··	34–57	132–01		→	1000	↗	09–00	12–40	27	43	70
18	18/··/··	34–57	132–01	27.1	→	1000	↖	07–15	10–20	40	21	61
19	18/··/··	34–57	132–01		→	1000	↖	09–40	13–30	33	23	56

* The effect of weather and sea conditions were cut down, because they were considered to be identical in the case of operations carried out by the examining boat which was 1.5 tons.

のうち 78% は潮上側から，22% は潮下側より羅網しているが，また両側からほぼ平均して刺していることも多く，潮下側から刺さつている魚体が多い場合もあつた。したがつて潮上側と潮下側の羅網状況に有意な差があるかどうか，標本平均の比較を対応がある場合について F 分布により検定[3]すると，危険率* 0.05% で潮上より羅網する魚体が多いといえる。

夜間**における羅網方向については，塚原[1]その他が五島周辺で計 11 回の調査より，漁獲尾数の 65% は潮上側から，35% は潮下側より羅網したことを報告している。

考　　察

トビウオが海洋中にあつて，ある時間において潮流に対し正に定位し，または無差別な游泳方向をとつているものとすると，前者の場合には潮下側より羅網するし，後者の場合は潮上，潮下側とも漁獲の 1/2 づつ羅網すべきであろう。いま沖合水域における羅網状況の 1 つの例を挙げると，1959 年 6 月 24 日浜田港N 76 浬置点において漁獲尾数 922 尾中，僅かに 11 尾 1.2% が潮下側より刺しているに過ぎなかつた。潮下側の羅網率がいづれの場合も 5% 以下であり，僅少に過ぎることは，当季の当時間における沖合水域ではトビウオが潮流に負に定位していることを示すものであろう。

しかるに沿岸部においては多少その趣を異にし，ある場合においては潮下からより羅網する魚体が多い場合もみられた。この現象はトビウオ漁業がどの形態の漁業でも極く沿岸で操業されている事実と考え併せてトビウオの産卵生態に関連するものと推測されるが，詳細は今後の研究に待ちたい。

要　　約

1959 年 6 月から 1960 年 7 月にわたり，沿岸および沖合水域でトビウオの羅網方向と潮流方向との関係について調査した。

1) 沖合水域では昼間において漁獲尾数の 95～99% 以上が潮流と同じ方向から刺さつており，潮流に逆らつて刺すものは僅少であつた。

2) 沿岸水域では昼間において大勢として潮流と同じ方向から刺さるものが多く，潮上側から 78%，潮下側より 22% が羅網したが，潮下側に多く羅網することもあつた。

3) 6～7 月における昼間（朝まづめ夕まづめを含む）のトビウオは距岸 30 浬以沖の水域にあつては，流れに対して負に定位しながら移動していることが予想される。

本文を終るに当り，御校閲を賜わつた日本海区水産研究所長内橋潔博士，調査に当つて御高配をいただいた神藤正場長に厚く御礼を申し上げる。

文　　献

1) 塚原　博・塩川　司・稲尾　正: 九大農学芸雑誌，**16**, 2, 287～311 (1957).
2) スネデカー: 統計的方法（上），2～7，岩波書店・東京 (1953).
3) 奥津　泰: 工場における推計学の問題と解き方，36～37，共立出版社・東京 (1954).

---

* $F'_{0_{18}} = 5.475\ F'_{18}(0.05) = 4.41$

** 島根沿岸では 1950 年以降は漁獲状況に差がみられないので，従来の夜間操業から昼間操業に転換した。

暖冬期における寒天の変敗防止に関する研究—VI.
寒天の品質におよぼす防腐剤の影響について

藤沢浩明・助川輝武

(1960 年 9 月 27 日受理)

STUDIES ON THE ANTISEPSIS FOR AGAR DURING THE MANUFACTURING PROCESS IN THE MILD WINTER—VI.
INFLUENCES OF ANTISEPTICS ON THE QUALITIES OF "TOKOROTEN" AND AGAR

Hiroaki Fujisawa and Terutake Sukegawa*

As already ascertained by the authors[1], addition of an anticeptic, hydrogen peroxide or chlorotetracyeline, to "tokoroten", a crude agar, does allow it to be finished into agar proper without suffering spoilage. However, the agar prepared from a "tokoroten" added with an antiseptic was found, in turn, to be reduced in the potency of producing the jelly strength, contaminated with residual antiseptic and possessed with a mood to color in its storage.

From these circumstances, it was tried in the present work to make sure the marginal conditions beyond which said undesirable effects of antiseptic addition to "tokoroten" grow practically serious. The results obtained are presented in Tables 1~4 and summarized as follows:

I. The effect on jelly strength for "tokoroten" and agar:

(1) The marginal concentration up to which hydrogen peroxide can be used without resulting in a drop of jelly strength lies likely between 1/10,000~1/5,000, at concentrations beyond this limit the fall of jelly strength enlarging with increasing addition of this medical, and especially in the case of agar.

(2) Addition of CTC has no effect at least up to 1/100,000.

II. Coloring effect:

(1) Addition of hydrogen peroxide at a concentration of 1/4,000~1/1,000 is effective for obtaining "tokoroten" as well as agar distinctly white as compared with respective controls.

(2) Addition of CTC at a concentration of 1/100,000 results in slight darkening of the agar produced despite of its negative effect at 1/200,000.

(3) As to discoloration of an agar under storage, effect of the hydrogen peroxide added at a concentration above 1/5,000 to "tokoroten" becomes apparent as a tendency to the discoloration, the tendency being the stronger, the larger the addition of this antiseptic, while CTC remains to be indifferent, insofar as its addition is smaller than 1/100,000.

III. Residue of antiseptic in the agar prepared.

(1) Although a "tokoroten" initially added with CTC is possible to retain a great portion of the antiseptic for a long period, it is not impossible to manufacture this "tokoroten" into an agar practically free from the CTC, and that even with ease.

(2) An agar made from a "tokoroten" added with hydrogen peroxide or CTC can be used in the preparation of culture media possessed of no such factors as do harm to the growth of common bacteria. It is considered, however, that an agar still containing residual CTC is not suitable for the preparation of culture media for the CTC-sensitive bacteria.

* 兵庫県水産試験場 (Hyogo Pref. Fish. Exp. Station, Akashi, Japan).

緒　　言

前報[1]において寒天の製造工程中にしばしば起る“ダンカン”を防止するためには，トコロテンに過酸化水素，クロルテトラサイクリン (CTC) 等の防腐剤を添加すれば著しい効果のあることを報告した。しかし製造工程中トコロテンにこれらの防腐剤を添加した場合には，製品である寒天の品質におよぼす影響としてゼリー強度の低下，貯蔵中の変色あるいは培養基材料としての適否等について懸念が持たれる。したがつて本報告においては，これらの点について二，三の検討を行なつた。

報告に先だち，寒天中の CTC の定量ならびに各種の培養試験を快諾され，かつ懇篤なる御教示を賜つた武田薬品工業株式会社研究所緒方浩一博士，現地試験について種々御配慮を戴いた兵庫県寒天組合理事長福井貞蔵氏ならびに本稿の御校閲を賜つた東京水産大学岡田郁之助先生に謹んで感謝の意を表する。

実　験　の　部

1. 寒天およびトコロテンの色沢ならびにゼリー強度におよぼす防腐剤の影響

供試防腐剤：防腐剤として“ダンカン”防止効果の著しい過酸化水素または CTC を用いた。

実験方法：前報[1]の方法にしたがい，替え越しの際に上記防腐剤をそれぞれの濃度になるように（過酸化水素 1/1,000～1/10,000，CTC 1/100,000～1/200,000），小舟の中のトコロテン液に添加し，液温の高いうちに充分攪拌した後自然に凝固せしめ，以下常法により 2 週間（気温 －8～12°C）凍乾させて寒天とした。寒天およびトコロテンの色沢について肉眼的に観察するとともにそれぞれゼリー強度を測定した。ゼリー強度の測定は，寒天では 1.5% ゲルについて 20°C において，トコロテンでは切断したものについて室温において，いずれも日寒式測定器により行なつた。

実験結果：Table 1 に見られるように，過酸化水素 1/1,000～1/4,000 添加の各試験区では，寒天およびトコロテンの色沢がいずれも無添加の対照区より良好であることが認められた。

CTC 添加の場合は，1/200,000 添加区の寒天およびトコロテンの色沢が対照区のものと同じであり，添加の影響が全く見られなかつたが，1/100,000 添加区の寒天の色沢は対照区のものより黒ずむ傾向が見られ

Table 1. The degradation in color and jelly strength of “tokoroten” and the agar prepared thereof caused by an antiseptic added to “tokoroten”.

Kind and concentration of antiseptic in “tokoroten”		“Tokoroten”			Agar		
		Color	Jelly strength measured at 5.5°C (gr/cm²)	Jelly strength relative to that of control	Color	Jelly strength measured at 20°C (gr/cm²)	Jelly strength relative to that of control
H_2O_2	1/1,000	##	810	92.0	##	280	70.0
	1/2,000	##	840	95.5	##	310	77.5
	1/4,000	#	860	97.7	#	360	90.0
	1/5,000	#	870	98.9	+	370	92.5
	1/10,000	+	880	100	+	400	100
CTC	1/100,000	+	880	100	−	400	100
	1/200,000	+	880	100	+	400	100
Control		+	880	100	+	400	100

The signs ##, #, +, − stand for relative depths of color.
##: Obviously lighter than control.
#: Something lighter than control.
+: Equal to control.
−: Darker than control.

た。

過酸化水素 1/1,000～1/5,000 添加の各試験区では，いずれも寒天のゼリー強度が低下し，かつ添加濃度の高い程その低下の割合が大きく，濃度 1/2,000 以上添加の場合はとくに低下の著しいことが見られた。

トコロテンのゼリー強度も過酸化水素の添加濃度の高い程低下の割合が大きいことを示しているが，いずれの濃度においても寒天のゼリー強度の低下率よりは小さいことが見られた。

寒天工場の従業員は過酸化水素を添加したトコロテンが添加しないものに比べ，天突き作業に際してかなり折れやすいということを云つているが，これは過酸化水素添加によるトコロテンのゼリー強度の低下を経験的に実証するものである。

CTC 添加の場合は，寒天およびトコロテンのゼリー強度に対する影響が全く見られなかつた。

2. 貯蔵中における寒天の変色におよぼす防腐剤の影響

実験方法: 上記 1 と同一の方法で製造した各寒天を実験室内に 2 月中旬から 7 月中旬までの 5 カ月間放置して，変色の状態を肉眼的に観察した。

実験結果: Table 2 に見られるように，過酸化水素 1/5,000 以上添加の場合は，いずれも貯蔵中に寒天の変色を来たす傾向があり，添加濃度の高いほど変色率が大きく，かつ呈色の著しいことが認められた。

CTC 添加の場合は貯蔵中における寒天の変色は見られなかつた。

Table 2. Coloration in 5 months storage of agar prepared from "tokoroten" added with an antiseptic.

Kind and concentration of antiseptic in "tokoroten"	Number of the lot of "tokoroten" used to prepare the agar examined										Relative prevalence of coloration
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
H_2O_2 1/1,000	＃	+	＃	＃	＃	＃	＃	+	＃	＃	10/10
H_2O_2 1/2,000	＃	+	＃	±	±	＃	＃	±	+	+	10/10
H_2O_2 1/4,000	−	±	+	−	−	＃				±	4/7
H_2O_2 1/5,000	−	±					+	−	−	−	2/6
H_2O_2 1/10,000							±	−	−	−	1/4
CTC 1/100,000			(−)	(−)	(−)	(−)					0/4
CTC 1/200,000			−	−	−	−					0/4
Control	−	−	−	−	−	−	±	−	−	−	1/10

＃: Apparently yellowish brown. (Commercially third grade)
＃: Something yellowish brown. (Commercially second grade)
+: Faintly yellowish brown. (Commercially first grade)
±: Very faintly colored. (Commercially first grade)
−: Practically colorless. (Commercially first grade)
(−): Grayish from the first, but the color did not deepen in the time of storage. (Commercially second grade)

3. 寒天およびトコロテン中の CTC 残存量

過酸化水素は分解しやすいので，トコロテンに添加しても製品中に残存することはないと考えられるが，CTC を添加した場合は寒天中に残存する懸念がある。したがつて次の方法によつて寒天およびトコロテン中の CTC 残存量を定量した。

実験方法: 従来の方法にしたがい，トコロテン液に 1/100,000 および 1/200,000 の CTC を添加して凝固させたトコロテンそれぞれ 8kg ずつ（5本分）をヨシ簀上に突きならべ，ヨシ簀ごと莚で覆つてなるべく凍結させないようにし，18 日間凍乾場（気温 − 9～8°C）に放置して，初めと終りに各試験区のトコロテン 1.6kg（1本分）ずつを採取して試料とした。次に覆を除いて常法通り凍乾させて 10 日後に寒天に製了した。寒天の歩留りはトコロテンの重量に対して 2% であつた。各試験区の寒天 32g（1本分）ずつを採取して試料とした。

各試料をトコロテンはホモジナイザーで，寒天は鋏で細切し，できるだけ均一に混合した後それぞれ 2g ずつを採取し，抽出剤（トコロテンについては M/15 燐酸緩衝液 pH 5.4，寒天については酸性アセトン pH 4.2) の 40cc を加えて，ホモジナイザーで一定時間攪拌抽出し，沪過する。

得られた透明液について，いずれも *Bioassay*[2] (*Bacillus cerus* No. 5 を使用する薄層カップ法) によつて CTC を定量した。

実験結果: Table 3 によれば，トコロテン中の CTC 量は，1/100,000 添加区では最初 9.1 ppm あつたものが 18 日後には 6.3 ppm となり，また 1/200,000 添加区では 4.5 ppm が 3.5 ppm といずれも減少しているが，残存率は 70～80% であり，かなり高い値が示されている。これはトコロテンをなるべく凍結させないように被覆したので，その中に含まれる CTC がトコロテンの脱水に伴つて流失することが少なかつたためと思われる。

しかし製品である寒天中には CTC は痕跡程度認められるに過ぎなかつた。

Table 3. Amounts of CTC in "tokoroten" and the agar prepared thereof.

CTC content in "tokoroten" was initially adjusted to be	CTC content in "tokoroten" measured by bioassay (ppm) on the first day (a)	CTC content in "tokoroten" measured by bioassay (ppm) after 18 days (b)	(b) : (a) in %	CTC content in finished agar
1/100,000	9.1	6.3	69	trace
1/200,000	4.5	3.5	78	〃

4. 寒天培地における細菌の繁殖におよぼす防腐剤の影響

トコロテンに防腐剤を添加して製造した寒天を細菌の培養基材料として用いた場合，細菌の繁殖に影響をおよぼすことが懸念されるので，次の方法により実験した。

供試菌株: 一般的なグラム陽性および陰性菌として次の 4 菌株を選んだ。

Micrococcus pyogenes, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Proteus vulgaris.

実験方法: 上記 1 と同一の各寒天について，これらをそれぞれ 2.5% 添加した肉汁寒天培地を作り，1.5 気圧 15 分間加圧滅菌した培地に上記の 4 菌株を接種して平板培養を行い，37°C で 24 時間放置した後，その繁殖状態を肉眼的観察によつて対照と比較した。

実験結果: Table 4 に見られるように，各試験区とも細菌の繁殖状態は良好であつて対照区と何ら異な

Table 4. Influence of addition of hydrogen peroxide of CTC to "tokoroten" on the growth of common bacteria in culture media prepared with the corresponding agar.

Kind and concentration of antiseptic added		Kind of bacteria cultivated			
		Micrococcus pyogenes	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Proteus vulgaris*
H_2O_2	1/1,000	+	+	+	+
	1/2,000	+	+	+	+
	1/4,000	+	+	+	+
	1/5,000	+	+	+	+
	1/10,000	+	+	+	+
CTC	1/100,000	+	+	+	+
	1/200,000	+	+	+	+
Control		+	+	+	+

The symbol + means the normal growth.

らず，本実験条件下では細菌の発育におよぼす防腐剤の影響は全く認められなかつた。したがつてトコロテンに防腐剤を入れて製造した寒天を培養基材料として用いても，一般の細菌の培養には支障がないと思われる。

しかし CTC のような抗菌性の強い抗生物質に対しては特に感受性の高い細菌も存在しうるので，たとえ微量であつても寒天中に CTC の残存するものを培養基に用いることは避けた方がよいと考えられる。

要　　約

"ダノカン" 防止のため，防腐剤をトコロテンに添加した場合における寒天の品質におよぼす防腐剤の影響について実験し，次の結果を得た。

1. 過酸化水素 1/1,000～1/4,000 添加した場合の寒天およびトコロテンの色沢は対照よりも白く良好であつた。

2. CTC 1/200,000 添加した場合，寒天およびトコロテンの色沢は対照と同じであつたが，CTC 1/100,000 添加した場合，寒天の色沢は対照よりも黒ずむ傾向が見られた。

3. 過酸化水素 1/5,000 以上の添加はトコロテンならびに寒天のゼリー強度を低下せしめ，かつ添加濃度の高い程ゼリー強度の低下率の大きいことが認められた。過酸化水素 1/10,000 および CTC 添加の場合は寒天およびトコロテンのゼリー強度に対する影響が見られなかつた。

4. 過酸化水素1 /5,000 以上添加した場合は，いずれも貯蔵中に寒天の変色するおそれがあり，添加濃度の高い程寒天の変色率が大きく，かつ変色が強いことが認められた。

5. CTC 1/100,000 および 1/200,000 添加したトコロテンには 18 日後において最初の CTC 量の 70～80% が残存していたが，このトコロテンから作つた寒天では痕跡程度の CTC が認められるにすぎなかつた。

6. 当該寒天を培養基として使用した場合，本実験条件下では細菌の発育に対する影響は全く認められなかつた。しかし CTC のような抗菌性の強い物質に対しては特に感受性の高い細菌も存在しうるので，たとえ微量であつても CTC の残存する寒天を培養基に用いることは避けた方がよいと考えられる。

文　　献

1) 藤沢浩明・助川輝武：本誌，**24**，342～345 (1958).
H. FUJISAWA and T. SUKEGAWA: Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **24**, 342～345 (1958).
2) 緒方浩一：醱酵工学雑誌，**36**，509 (1958).
K. OGATA: J. Ferm. Tech., **36**, 509 (1958).

酸化魚油の抗菌作用に関する研究—V.
酸化魚油の蛋白質との複合体形成

豊 水 正 道

(1960 年 11 月 29 日受理)

STUDIES ON ANTIMICROBIAL ACTION OF OXIDIZED FISH OIL—V.
COPOLYMER FORMATION FROM OXIDIZED FISH OIL AND PROTEIN

Masamichi Toyomizu*

The present paper is concerned with *in vitro* copolymerization of the antimicrobial oxidized fish oils with protein.

10cc of oxidized calamary oil methyl ester was emulsified into 20cc of 2% egg protein solution. The flask containing the mixture was placed in a water bath maintained at 37°C and stirring was continued for 3 hours. The yellow brownish copolymer was obtained by removing the unreacted methyl ester and protein (Table 1, 2). In the reaction calamary oil methyl ester could not copolymerize with protein if not previously oxidized (Table 3). A pronounced effect of the nitrogenous source on the rate of copolymerization was detected. The rate of copolymer formation from protein was higher than that from peptone, and no copolymer was formed from protein hydrolyzate and glycine (Table 4). The necessary group in oxidized fish oils required for copolymerization with protein seemed to be carbonyl group judging from the copolymerization of oxidized fish oils with protein and the cocurrent changes of chemical characteristics of the oils (Table 5), so it seemed that an amino-carbonyl condensation reaction would take place in oxidized fish oil-protein copolymer formation as in a typical browning of dried milk or a dried egg.

酸化魚油の抗菌作用形式およびこの作用に対する阻害作用物質を検討した前報[1]の結果から，抗菌作用機構は酸化魚油と菌体との結合によると推定した。蛋白質が種々の物質と複合体を作ることは広く知られている。この複合体の中には普通の溶媒抽出のような簡単な処理によつて分解されて元の物質にわかれる不安定なものから，熱アルコール或はアルカリ処理のような比較的烈しい処理によつてのみ分解される安定なものまで種々ある。これ等のうち生体内に存在する複合体では脳組織中の蛋白質と脂質との複合体[2]が安定であると云われている。

酸化油が蛋白質および蛋白質以外の低級含窒素物と反応することについてはあまり研究されていない。野中[3]は酸化油中のハーファルデハイドが蛋白質の分解物である低級窒素化合物と結合していわゆる油焼の現象を呈すると述べている。松尾[4]は酸化油中の過酸化物がグリシンと反応してアンモニヤを発生するが，定量される値は理論値に比して非常に低く，大部分のアンモニヤは酸化油と反応して酸化油を黒褐色に変色させると述べている。また Witting 等[5]は含硫アミノ酸と不飽和アルデハイドとの縮合生成物がγ線照射による食品の悪臭発生の前駆物質であろうと推論した。酸化油と蛋白質との複合体形成については Tappel[6]および Narayan 等[7]の報告がある。前者はリノール酸の酸化によつて生じたアルデハイドが蛋白質の活性アミノ基と化学的に結合して複合体を形成すると述べているのに対し，後者は卵アルブミンと酸化リノール

* 九州大学農学部水産化学教室 (Fish. Chem. Lab., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan).

酸とが複合体を形成するのは共有結合によるのではなくて水素結合によると述べている。

著者は酸化魚油の抗菌作用が菌体蛋白質との結合に基づいているのではないかと云う推定のもとに抗菌性酸化イカ肝油メチルエステルと卵蛋白質との複合体形成について検討した。

実 験 方 法

卵蛋白質溶液の調製: 卵白をガーゼで沪過し，4.5 倍量の水を加え静かに攪拌する。卵グロブリンは沈殿するからこれを沪別して約 2% の卵蛋白質水溶液を得た。

抗菌性酸化魚油: 常法によつて得たイカ肝油メチルエステルを 1.5 時間 100°C で酸素吹込み下で酸化した。

複合体の定量: 卵蛋白質水溶液と酸化魚油との懸濁液を 100cc の共栓フラスコを用いて 37°C の水浴中で振盪して反応させた。一定時間後多量の水を加えて反応を停止させてから遠心分離すると未反応油と複合体は上層に集るから，サイホンで水溶液を除去する。この操作を 3 回繰返して未反応の蛋白質を除去する。上層部の未反応油と複合体はアルコール，次いでエーテルで充分に洗滌してからグラスフィルター (3G-3) に移し，更にアルコール，キシレンおよびエーテルで洗滌して未反応油を除去後 90°C で 20 分間乾燥してから得た黄褐色の複合体を秤量した。

実 験 結 果

I. 酸化魚油と卵蛋白質との複合体形成

酸化イカ肝油メチルエステルと卵蛋白質との複合体形成の条件を明らかにするために酸化イカ肝油メチルエステルの添加量と反応時間とについて検討した。20cc の 2% 卵蛋白水溶液に対し酸化イカ肝油メチルエステルを 15～2.5cc 添加して 3 時間反応させた処，Table 1 に示したように複合体の形成には 10cc の酸化メチルエステルの添加で充分であつた。次に 20cc の卵蛋白質水溶液に 10cc の酸化イカ肝油メチルエステルを添加して 1～7 時間反応させて反応時間について検討した処 Table 2 で示したように 3 時間の反応時間で複合体はほぼ完全に形成されることがわかつた。以上の実験結果から以降の実験には総て 20cc の試料溶液に対し 10cc の酸化イカ肝油メチルエステルを添加して 3 時間反応させて実験を行なつた。Table 3は卵蛋白質溶液に対する酸化イカ肝油メチルエステルと蒸留直後の未酸化イカ肝油メチルエステルとの複合体形成の結果を示したものである。これによつて未酸化イカ肝油メチルエステルは複合体を形成しないが，酸化イカ肝油メチルエステルは複合体を形成することが明らかになつた。

Table 1. Effect of the amount of oxidized calamary oil methyl ester on the rate of copolymer formation.

Oxidized methyl ester added (cc)	Copolymer formed (mg)
0	18
2.5	44
5	53
7.5	84
10	112
15	118

Each oxidized ester was added to 20cc of 2% egg protein soln.

Table 2. Effect of reaction time on the rate of copolymer formation.

Reaction time (hr.)	Copolymer formed (mg)
1	43
3	115
5	123
7	135

Table 3. Copolymer formation from calamary oil methyl ester by oxidation.

	Copolymer formed (mg)
Oxidized calamary oil methyl ester	110
Fresh calamary oil methyl ester	16

10cc of ester was added to 20cc of 2% egg proteinsoln.

II. 酸化魚油の複合体形成と含窒素物の分子形態との関係

酸化イカ肝油メチルエステルが蛋白質と複合体を形成することが明らかになつたので，含窒素物の分子の形態が酸化イカ肝油メチルエステルの複合体形成作用におよぼす影響について検討した。すなわち蛋白質，アルブミン酸分解物，カゼインソーダ，カゼイン酸分解物，ペプトンおよびグリシンの2%水溶液を試料とし，これ等と酸化イカ肝油メチルエステルとの複合体の形成を調べた結果を Table 4 に示した。これによつてグリシンおよび蛋白質の分解物であるアミノ酸混合物は酸化イカ肝油メチルエステルとは遠心分離後上層に浮上する複合体を形成しないが，ペプトン以上の高分子のものは複合体を形成し，酸化イカ肝油メチルエステルの複合体形成には窒素化合物の分子形態が重要な因子であることがわかつた。

Table 4. Copolymer formation from oxidized calamary oil methyl ester and various kinds of nitrogenous compounds.

	Copolymer formed (mg)
Egg protein	113
Albumin hydrolyzate	0
Sodium caseinate	68
Casein hydrolyzate	0
Peptone	34
Glycine	0

10cc of oxidized ester was added to each 20cc of 2% nitrogenous soln.

III. 酸化イカ肝油メチルエスチル中の反応基

酸化イカ肝油メチルエステルと卵蛋白質とを 37°C で3時間反応させて複合体を形成させた後の未反応のイカ肝油メチルエステルの化学的性状と反応前のそれとを比較して反応に関与したと考えられる反応基を推察した。その結果を Table 5 に示した。反応後の未反応イカ肝油メチルエステルの沃素価は減少し，過酸化物価は反応前よりもかえつて増加していることから反応中に酸化が更に進んだおそれはあるが，他方抗菌作用に関係のある反応性の大きいヘキサン可溶性の不飽和カルボニルは明らかに複合体形成反応のために減少し酸化イカ肝油メチルエステルではこのカルボニル基が反応基であることを暗示している。

Table 5. Changes in chemical characteristics of oxidized calamary oil methyl ester during the copolymer formation reaction.

	Iodine value	Peroxide value	Acid value	Hexane soluble carbonyl Unsat. (m·mol/kg)	Hexane soluble carbonyl Sat. (m·mol/kg)
Before reaction	187.5	14.2	3.4	87.0	62.1
After reaction	185.7	22.2	3.5	41.2	59.1

考　　察

酸化魚油は蛋白質と複合体を形成し，黄褐色の複合体が遠心分離により上層部に分離されたが，蛋白質の酸分解であるアミノ酸混合物とは複合体を全く形成しなかつた。実際に酸化魚油が合成培地に添加された場合には酸化魚油が培地中のアミノ酸と反応するよりも培地中の唯一の蛋白質である菌体と直接反応する可能性が遙かに大であることはこの結果から当然考えられる。松尾[3]は卵蛋白質水溶液に高度不飽和脂肪酸エチルエステルの自動酸化物を加え 37°C に放置すると，蛋白質は著しく変性をうけて橙褐色豆腐状の沈殿を生ずるが，これは自動酸化生産物である過酸化物と端在アミノ酸との反応のためであると推論した。また，TAPPEL[6] は amino-carbonyl 反応によつて酸化油と蛋白質とが複合体を形成すると主張したのに対して，NARAYAN 等[7] はラウリルアルデハイドとアルブミンとは比較的僅小量の複合体しか形成しないことおよび酸化油の場合は 8% であつた複合体の脂肪含量が 2% 以下に減少することから，amino-carbonyl 反応によつて複合体を形成するのではなく，水素結合によつて反応が行なわれると主張した。著者の実験結果では Table 5 で示した如く複合体形成によるカルホニルの減少は不飽和カルホニルで顕著であるからラウリルアルデハイドとアルブミンとの複合体形成が大でなかつたことから amino-carbonyl 反応を否定するのは妥当

ではない。不飽和脂質の酸化最終生産物は多量のアルデハイドを含有し，特に揮発性物質がほとんどアルデハイドであることはすでに示した[8]。これ等のアルデハイドが蛋白質と反応して褐色の含窒素複合体を生ずることは当然考えられる。乾燥ミルクや乾燥卵の褐変化現象および水産物の油焼は総て不飽和脂質の酸化によつて促進される amino-carbonyl 反応であることは知られている。これと同じ反応が酸化魚油と菌体蛋白質との懸濁液系である培養基中で起きない理由はみあたらない。Table 5 に示した反応後におけるカルボニル価の減少は明らかにカルボニルが複合体形成反応に関与していることを示すものである。酸化油と蛋白質との複合体形成反応に関してこのように NARAYAN 等が著者および TAPPEL と異なつた機構を提唱した一つの理由としては実験条件の相違を考慮に入れなければならない。著者は酸化油の抗菌作用機構を究明するために複合体形成を論じたのであるから反応温度は微生物の増殖温度を考慮して 37°C とした。この温度は偶々 TAPPEL の温度と同一であり，NARAYAN 等の反応温度 60°C と比較して非常に低温である。

要　　約

1. 酸化魚油と蛋白質との複合体形成反応について検討した。

2. 2% 卵蛋白質水溶液 20cc に対し 10cc の酸化イカ肝油メチルエステルを加え 37°C で 3 時間振盪後未反応の蛋白質および酸化油を除去して黄褐色の複合体を得たが，未酸化のイカ肝油メチルエステルでは複合体は得られなかつた。

3. 酸化魚油の複合体形成は蛋白質とが最も収量がよく，ペプトンとはこれに次ぎ，蛋白質の酸分解物であるアミノ酸混合体とは複合体を形成しなかつた。

4. 複合体形成後の未反応酸化イカ肝油メチルエステルの性状と反応前の性状の変化から酸化魚油中の反応基はカルボニル基と考えられる。

終稿に当り終始御懇篤な御指導を賜つた富安教授に謝意を表する。

文　　献

1) 豊水正道：本誌，**27**, 182 (1961).
2) FOLCH, J., ASCOLI, I., LEES, M., MEATH, J. A. and LE BARON, F. N.: J. Boil. Chem., **191**, 833 (1951).
3) 松尾　登：生化学，**29**, 773 (1958).
4) 野中順三九：本誌，**21**, 1250 (1956).
5) WITTING, L. A. and BATZER, O. F.: Food Research, **22**, 237 (1957).
6) TAPPEL, A. L.: Arch. Biochem. Biophys., **54**, 266 (1955).
7) NARAYAN, K. A. and KUMMEROW, F. A.: J. Am. Oil Chem. Soc., **35**, 52 (1958).
8) 豊水正道：本誌，**26**, 733 (1960).

致死条件が魚肉蛋白におよぼす影響—Ⅱ.
即殺および苦悶死コイ肉蛋白の凍結による変化

右田正男・大竹茂夫

(1960 年 12 月 23 日受理)

INFLUENCE OF DIFFERENT LETHAL CONDITIONS UPON FISH MUSCLE PROTEIN—II.
DENATURATION OF CARP MYOSINS BY FREEZING AND FROZEN STORAGE.

Masao Migita and Shigeo Otake*

Effect of freezing and cold storage upon the extractability and salting-out behavior of muscle protein was examined, using carp killed in two different ways; one was instantly put to death by beheading and the other was beheaded after allowed to struggle in air for several hours.

Fillets taken from these two groups of carp were frozen at −15°C and stored at this temperature for a period varying from 2 to 14 days. Before freezing and at each different time of cold storage, myosins were extracted from these fillets with 0.6M KCl (pH 6.6), precipitated by dilution, and the amount was measured. With isolated myosins salting-out behavior toward ammonium sulfate was determined at pH 6.9 and at the temperature of 0°C.

Extractability Myosins were always extracted greater in amount from death-after-struggle group than from instant death group throughout the period of the present experiment. No significant difference, however, in the ratio of amount of myosins (M) to salt extractable protein (L), was noticed between the two groups. After frozen storage of 10 days, a slight diminution in the values of L and M was observed in the muscle of instantly killed fish, but it was not appreciable for death-after-struggle group within the limited duration of the present test. Meanwhile, the ratio $M : L$ seemed to decrease somewhat in both groups on prolonged storage (Table 1).

Salting-out Curves Around the range of 30~40% (v/v) saturation of ammonium sulfate in the salting-out curves for either group, there was found a dominant peak, which presumably represented myosin and actomyosin. With fresh fillet before freezing, this peak was more prominent for the instant death group than for the other.

However, by freezing and subsequent frozen storage, the pattern of the curves for instant death group turned out close to those of unfrozen fillet of death-after-struggle group, and inversely the pattern of the latter group became kin to those of the former group that was not frozen. This will be obviously perceived from the mode of slope and fall in the s-c curves in the range of 30~40% saturation of ammonium sulfate (Figs. 1 and 2).

In another series of experiments similarly conducted for isolated myosin gel, the results given were not quite the same as obtained for the fillets. The salting-out curve of the gel from fish killed after struggle became analogous to that of fresh, unfrozen gel from instant death group, just as seen in the case of the fillets. But the curves of frozen myosin gel from instant death group was not altered by freezing process and cold storage (compare Figs. 1, 2 and Figs. 3 and 4).

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab.).

東海区水産研究所業績 B 340 号

It is notable in Figs. 1～4 that there was found concentration range of ammonium sulfate in which components salted-out decreased in amount with increasing concentration as the result of freezing and subsequent storage. This means that a part of components which were salted-out at concentration c_1 remained in solution in the range of higher concentrations between c_1 and c_2. This effect will be valid for either fillet or isolated myosins gel.

Actin fraction in the salting-out pattern In the previous paper†, it was shown with fresh fillets that actin fraction appeared in the salting-out pattern of myosin fraction from carp killed after struggle, but the corresponding fraction was absent in the case of carp put to an instant death. In addition, it was mentioned that this actin fraction would not appear, if the extraction of myosins from carp killed after struggle was carried out in the presence of ATP.

In the present work, it was found that when the fillets were frozen and kept for 2 days or 6 days, a prominent peak presumed as actin fraction, appeared also in the case of carp put to an instant death. However, with prolonged storage, this peak became far less prominent, though it had not disappeared.

Actin fraction in the salting-out patterns of myosins from carp, killed after struggle, hardly underwent the change in 2 day frozen storage, but in 6 day frozen storage, a sharp peak did appeared in the range below 10% saturation of ammonium sulfate. And, furthermore, decrease in amount of a component salted-out was observed between 10% and 20% saturation of the salt. Prolonged frozen storage seemed to shift the range from low saturation of ammonium sulfate to higher, in which decrease in salting-out was ready to occur. When isolated myosins gel was frozen and subsequently stored, actin fraction was never or hardly observed in either group of fish.

Addition of ATP was found effective to inhibit the appearance of actin fraction in the fillet from death-after-struggle group which was stored frozen one day, but not for the fillet kept frozen for two days (Figs. 5 and 6).

† Influence of death conditions upon muscle protein-I. Composition of myosins from carp killed instantly and in anguish. MIGITA, M., OTAKE, S.: This Bulletin, **26**, 140 (1960).

NIKKILÄ および LINKO[1] は死後硬直中に凍結した Baltic herring の肉と解硬直後凍結したものとをくらべ，解凍後前者は後者よりも短時間に，塩溶性蛋白窒素およびミオシン区窒素の減少することをみ，凍結されるときの魚肉の物理的状態がことなれば凍結中肉蛋白のこうむる影響も異なることを指摘している。最近われわれ[2]は，即殺されたか，苦悶死したかで，コイのミオシン区蛋白の性状が異なること，すなわち，即殺区の塩析曲線では，ミオシンおよびアクトミオシンの山が主体をなしているが，苦悶死区の曲線には，このほかアクチンの山が認められることを見出した。そこで今回は，この致死条件の異なるコイ肉を凍結した場合，それぞれのミオシン区蛋白の性状が，さらにどうちがつてくるかをみるために，塩溶液による抽出度，硫安に対する塩析現象をしらべた。

試料および実験方法

試料 魚種：コイ，時期：12 月 3 日および 4 日，体重：800～1000g.

即殺区 魚商の水槽からとりあげ，直ちに頭をおとし，氷冷して実験室にもち帰えつたもの。

苦悶死区 空気中に 3～4 時間放置後，頭を落す。

肉の凍結 即殺，苦悶死各区のコイをそれぞれ三枚におろし，血合肉を除き，白肉 30g づつ 5 組をとり，一組は凍結前の試料とし，残りの 4 組は −15°C で凍結し，そのまま貯蔵し凍結試料とした。

凍結肉よりミオシン区蛋白の分離 凍結肉を 0°C の氷水中に 3 時間浸し 5mm 角に切り，冷 0.6 M KCl 10 倍量で 2 分間抽出，30 分間遠心分離 (0～1°C, 3000 r.p.m.)，上澄液を氷冷かくはんしながら，2 倍量の氷冷水を滴下し，沈澱するものをミオシン区蛋白とした。

塩析分析　前報と同じく，SNELLMAN および TENOW[3] の方法に準じ，ミオシン区蛋白を KCl-りん酸塩 buffer (0.1M K_2HPO_4/0.5M KCl, 1l + 0.1M KH_2PO_4/0.5M KCl, 0.4l; pH 6.9) にとかし，これに一連の濃度の硫安を添加し平衡に達せしめた後，溶存している蛋白の量をはかり，溶存蛋白～硫安濃度曲線 (*s-c* 曲線) を作り，これから塩析曲線を求めた。

結　　果

1　即殺および苦悶死コイ肉の凍結貯蔵中におけるミオシン区蛋白の変化

−15°C で凍結したコイ肉をその温度に 2 日，6 日，10 日，14 日冷蔵したときの蛋白の変化をみた。外観的には即殺，苦悶死両区とも，凍結 2 日で肉に弾力のおとろえが，6 日以降は軟化が認められた。

1-1　*ΔTP-P* 含量

試料とした各肉の *ΔTP-P* の含量は次のようであつた。

	凍結前	凍結 2 日
即 殺 肉	60 mg%	0
苦 悶 死 肉	0	—

1-2　溶出蛋白量

10 倍量の 0.6M KCl で抽出される蛋白を塩溶性蛋白，このうち 0.2M KCl で沈澱する部分をミオシン区蛋白として，即殺肉および苦悶死肉の凍結保存中における溶出蛋白量の変化をみると，Table 1 のようになる。

Table 1.　Change in extractability of "myosins" during freezing and cold storage.

Group of carp	Time of frozen storage (day)	Salt extractable protein (*L*) (mg. Pr. N/g muscle)	"Myosins" (*M*) (mg. Pr. N/g muscle)	*M*/*L* (%)
Instant death	Before freezing	21.5	14.5	67.4
	2	21.4	15.2	71.1
	6	21.5	14.3	66.4
	10	20.6	13.3	64.3
	14	19.0	12.2	63.8
Death-after-struggle	Before freezing	24.3	16.5	68.0
	2	22.6	15.5	68.6
	6	24.3	15.8	64.7
	10	23.6	15.1	63.6
	14	25.1	16.2	64.4

表から次のようなことがいえる。

(i) 致死条件と溶出蛋白量の関係　苦悶死区では，即殺区に比し，筋肉 1g から抽出される蛋白の量もミオシン区蛋白の量も明らかに多い。しかし塩溶性蛋白中のミオシン区蛋白の割合は，両区の間に殆んど差がない。

(ii) 凍結日数と溶出蛋白量の関係　凍結日数が 10 日以上になると，即殺区では塩溶性蛋白の量もミオシン区蛋白の量も幾分低くなるように見える。Table 1 に示したこの二つの蛋白の値は，その都度の試料 1g に対するものである。従つて凍結冷蔵中に試料が水分を失ない，目減り（普通 5% 以下）を生ずることを考えると，凍結 10 日以上の試料では，実際の溶出蛋白量は，表の値よりも幾分小さい。一方，苦悶死区では少なくとも 2 週間程度の凍結冷蔵では，溶出蛋白量は殆んど変化が見られない。溶出蛋白中のミオシン区蛋白の割合は，即殺区でも苦悶死区でも，凍結が長びくと，僅かではあるが減つていく傾向がみられる。

1-3 硫安による塩析

a. 溶存曲線（s〜c 曲線）

硫安の濃度いかんで溶存しているミオシン区蛋白の量がどうかわるかを，溶液の吸光度の変化で示すと，Fig. 1 のような結果がえられた。この曲線を溶存曲線とよぶことにする。実験の精度からいつて，曲線のこまかい起伏を論ずることは意味がない。ここで重要なのは曲線の傾向である。曲線はいずれも全体としては下降曲線であるが，ある点で特に大きく下るもの（例：凍結前の即殺肉）と，そうでないもの（例：凍結前の苦悶死肉）とがあり，また途中はつきりとした山や谷の認めめられるもの（例：凍結 2 日の即殺肉，凍結 10 日の苦悶死肉）もある。このような点から Fig. 1 の曲線をみると，致死条件と凍結日数によつて溶存曲線に面白い相異のあることがわかる。総括的にいうと，凍結前の肉では，致死条件にかかわらず，曲線にはつきりした山や谷の認められることはない。致死条件のちがいは曲線の形と傾きにあらわれている。すなわち，即殺，苦悶死いずれの場合も曲線にはある点で急に下る部分があるが，即殺区ではこの部分が大きく，かつその前後の傾斜はごく小さく，ほぼZ字形をしている。一方，苦悶死区では，曲線が急に下る部分は僅かであり，またその前後の曲線の傾きは，即殺肉の場合に比べると大きく，曲線全体としては，だらだらと下つていく感じである。

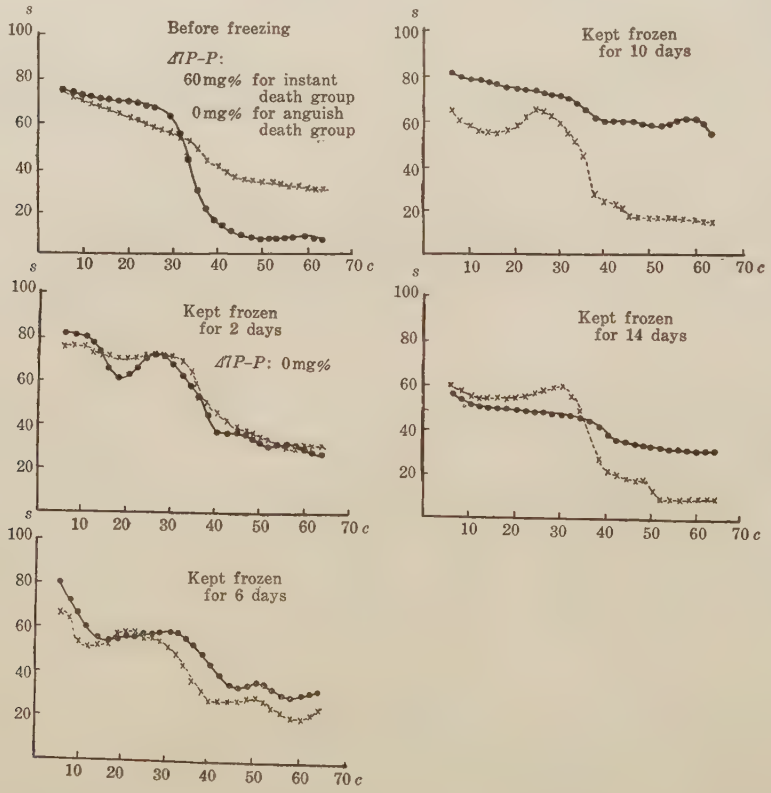


Fig. 1. Variation in salting-out behavior of myosins from carp killed differently, frozen and stored at −15°C. (Varying amounts of ammonium sulfate were added to the myosins dissolved in 0.5M KCl-phosphate buffer and brought to equilibrium; then myosins remaining dissolved were determined).
-•—•- carp put to instant death, *--*- carp killed after struggle.
s: the extinction at 275 mμ.
c: per cent in volume of saturated ammonium sulfate.
Equil. temp.: 0°C. Equil. pH: 6.9. Time for equil. 18 hrs.

ところが肉が凍結されると，曲線にはつきりとした変化があらわれる。まず著しいことは，即殺区では凍結2日で，苦悶死区では凍結6日で，曲線にはつきりした山が現われることである。つぎに曲線が大きな下降を示す硫安濃度約 30～45% 飽和に相当する部分をみると，両区とも凍結2日で変化が現われはじめている。すなわち即殺区ではこの部分の傾斜はややゆるやかに，その長さは小さくなり，苦悶死区では反対に，この部分の下降は大きく，かつ急になつている。そして凍結6日では両区の曲線はほとんど同じような形を示し，凍結 14 日では，苦悶死群の曲線に，かなりはつきりした山の認められることを除くと，即殺区と苦悶死群の曲線が凍結前と全くいれかわつた型になつている。ある点で溶存曲線が急に大きく下ることは，その硫安濃度で著しい塩析がおこることを示し，曲線の途中に上昇部のあらわれるのは，その区域では硫安の濃度がますと，かえつて塩析されがたくなることを示す。これらの関係は Fig. 1 の各曲線から，$\Delta s/\Delta c$ と c との関係，すなわちそれぞれの硫安濃度で塩析される成分の量的関係を示す塩析曲線 (Fig. 2) を求めるとさらに明らかになる。

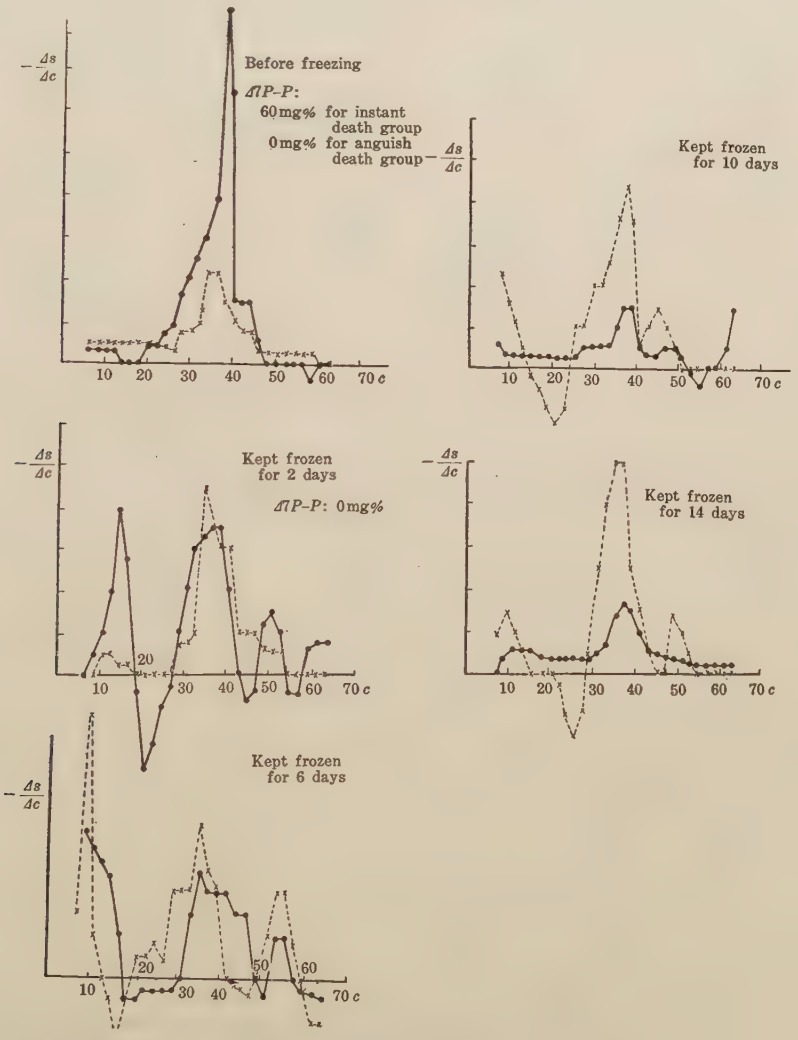


Fig. 2. Salting-out patterns derived from Fig. 1.
$\Delta s/\Delta c$: the differential extinction as a function of concentration.

b. 塩析曲線

筋肉の主な構造蛋白の硫安に対する沈澱域（硫安の % 飽和度 v/v）は，ウサギ筋肉について一般に認められているところ[8]によると，アクチン 9～20%，アクトミオシン 28～32%，ミオシン 32～45%，トロポミオシン 55～64% である。この値が，コイの場合にもあてはまるとすると，Fig. 2 から次のようなことがいえる。

(i) Fig. 2 の各曲線を通じていえることは，硫安の 30～45% 飽和の間にはつきりした塩析点を示す成分の認められることである。これは，アクトミオシンとミオシンからなると推定される。この山は凍結前の肉では，即殺区の方が，苦悶死区のものより大きいが，凍結 2，6 日では，両者はほぼ等しくなり，凍結 10，14 日では，苦悶死区の方がかえつて大きくなつている。

(ii) 硫安の 10～20% 飽和で析出し，アクチンと推定される成分の山は，凍結前の即殺区では殆んど無視できる程度であるが，凍結の初期（2 日，6 日）には著しくまし，塩析される主な成分の一つとなつている。しかし，凍結 10 日，14 日では，この山は著しく小さくなる。ただし消えさることはない。

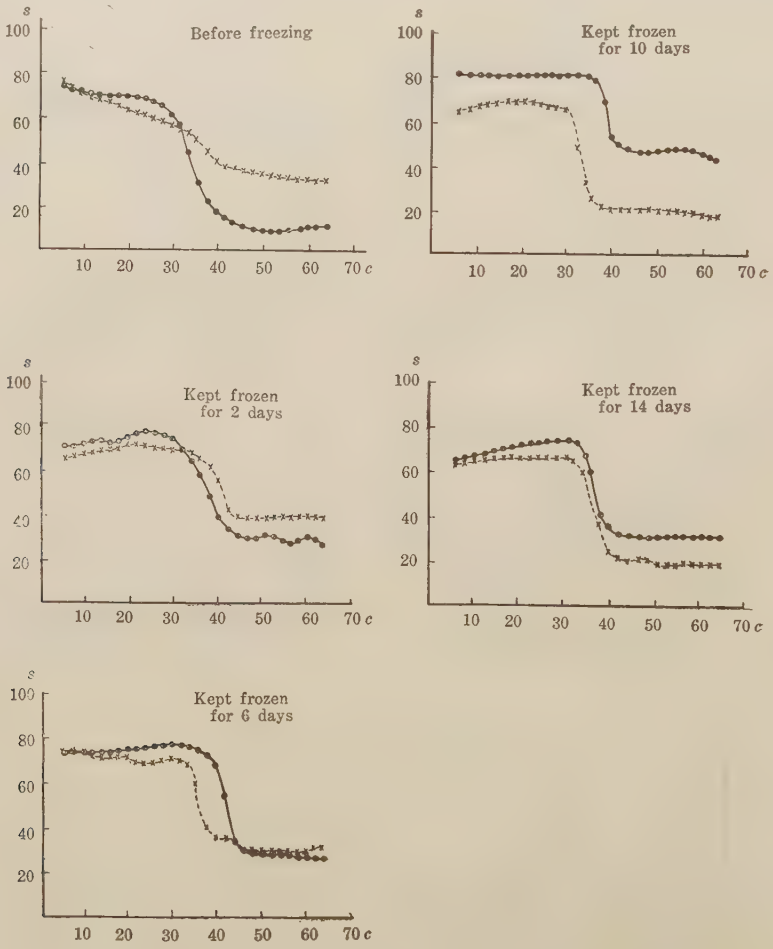


Fig. 3. Variation in salting-out behavior of isolated myosins gel during freezing and subsequent frozen storage at −15°C. (Myosins used here were isolated from the same fish as tested in experiments of Fig. 1) Conditions as in Fig. 1.

一方，苦悶死区では，即殺区の場合と異なり，この山は凍結前から小さいながらはつきりとその存在が認められており，かつ凍結してもすぐには（凍結2日）変化しない。その上，凍結6日では，硫安の 7～10% 飽和の区分に鋭い山が現われ，10～20% 飽和の間では，塩析される蛋白の減少，すなわちそれより低濃度で塩析されていた蛋白の一部が，析出されずに溶液中に止まる（Fig. 1 では曲線に山として，Fig. 2 では曲線が横軸の下に現われる）という結果がえられている。

(iii) 塩析される蛋白の量が，硫安のより高い濃度区分でかえつて減少する現象は，肉の凍結によつて，ミオシン区蛋白におこる変化の一つであるらしく，即殺，苦悶死いずれの場合にも見られる。しかし，この現象の現われる硫安濃度の区域や塩析量の減る度合は同じではない。すなわち，この現象が即殺区にはつきりと認められるのは，凍結2日，硫安濃度 20～30% の区域であるが，凍結6日になるとかなり弱まり，凍結 10 日以上になると，殆んど認められなくなる。一方，苦悶死区では凍結2日の試料には認められず，6日以後になつて現われてくるが，塩析量がへる硫安の濃度区域は，凍結6日で 10～20%，凍結 10 日で 15～25%，凍結 14 日で 20～30% と，次第に濃度の高い方に移つていくようにみえる。なお，凍結6日には 50～60% の区域にも塩析量の減少が認められる。

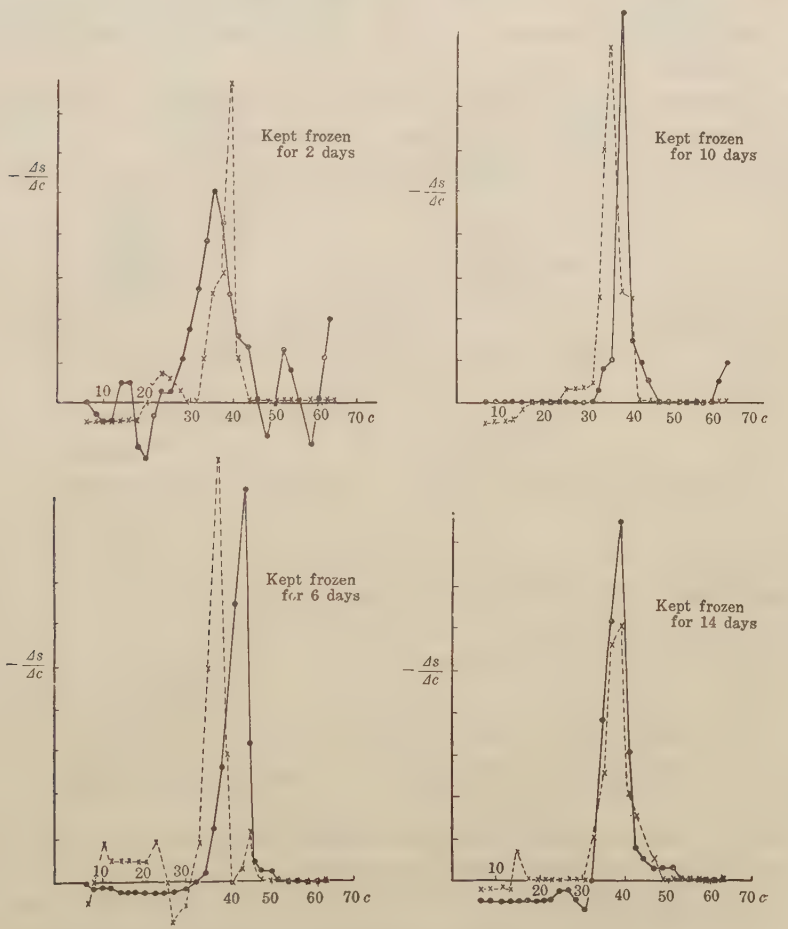


Fig. 4. Salting-out pattern derived from Fig. 3.

2 分離したミオシン区蛋白を凍結した場合の変化

実験1に用いた同じ即殺および苦悶死肉からミオシン区蛋白ゲルを分離し，実験1と同じ条件の下に凍結冷蔵して，Fig. 3～4 に示す結果をえた。

(i) 凍結後の *s*～*c* 曲線 (Fig. 3) の形はいずれもZ字形である。凍結によつて苦悶死区の曲線は，凍結前の即殺区の曲線に近づく。この点筋肉として凍結した実験1の結果と似ている。しかし，実験1の場合と異なり，凍結によつて即殺区のZ字形曲線が崩れて，凍結前の苦悶死の曲線に近づいてくるということはない。

(ii) 実験1の場合と同じく，致死条件に関せず，凍結後の曲線には，硫安のある濃度で塩析量の減少がおきていることを示す部分がある。しかし，その程度は実験1の場合ほど著しくはない。

(iii) 肉として凍結したときは，即殺区の曲線にアクチンと推定される区分の出現がみられたが，ミオシン区蛋白ゲルを凍結した場合には，即殺区にアクチン区分を認めることはできなかつた。

3 ATP 添加の影響

前報にのべたように苦悶死したコイ肉に微量の ATP を加えて抽出すると，えられたミオシン区蛋白の塩析曲線は，アクチン区分を示さず，この点に関する限り，苦悶死型の肉を即殺型の肉に近づけたような効果がある。そこで凍結された苦悶死肉の場合どうなるかを，抽出剤 100 m*l* あたり 10 mg の ATP を加えて抽出したミオシン区蛋白についてしらべた。

結果は Fig. 5～6 に明らかなように，凍結1日の苦悶死肉では，ATP の添加は，鮮肉の場合と同じような効果を示すが，凍結2日の肉に対しては，その効果は認められなかつた。

また，ATP を添加して抽出すると，塩析される蛋白量の減少がおこらなくなる場合（凍結1日および2

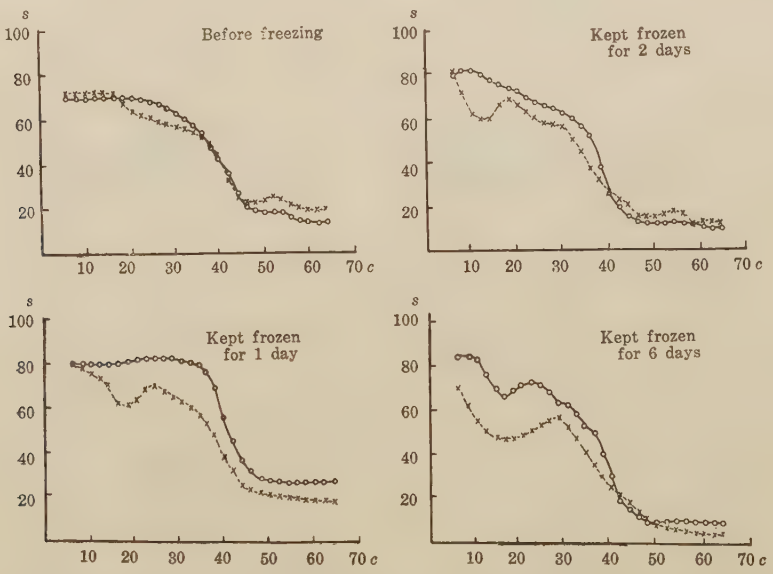


Fig. 5. Influence of ATP on salting-out behavior of myosins from carp killed after struggle, frozen and kept at −15°C.
-o—o- myosins were extracted in the presence of ATP 10 mg per 100 m*l* of the extractant.
-*--*- control; extraction was carried out without adding ATP.
Other conditions are the same as in Fig. 1.

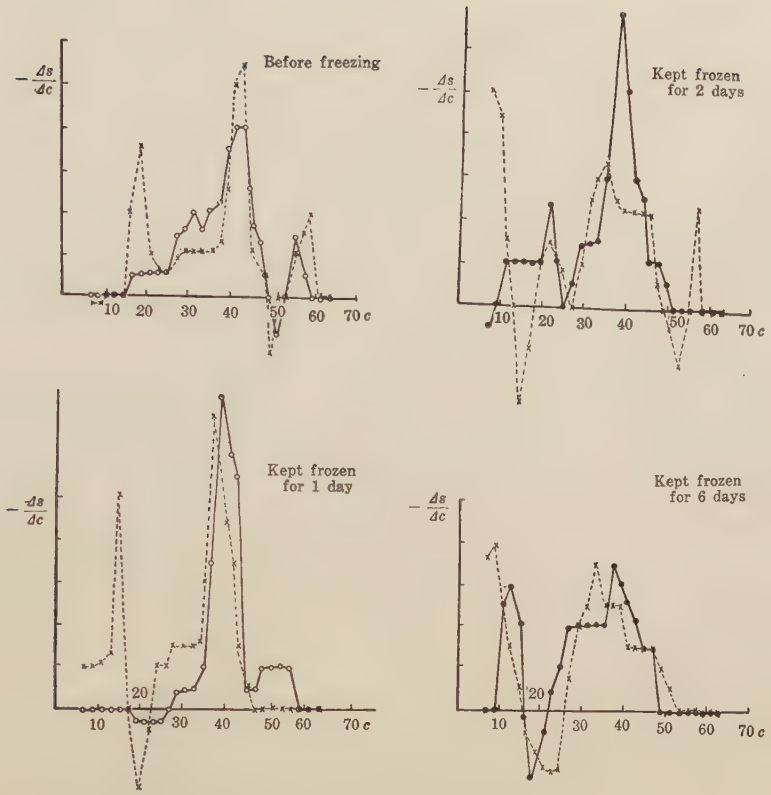


Fig. 6. Salting-out patterns derived from Fig. 5.

日）もあつたが，そうでない場合（凍結6日）もある。

考　　察

凍結によるミオシン区蛋白の変性

即殺，苦悶死いずれの区でも，肉を凍らした場合（実験1），凍結2日で，溶存曲線と塩析曲線に大きな変化が現われ，凍結 14 日では，両区の曲線がいれかわつたような結果（Fig. 1～2）がえられた。例えば凍結前典型的なZ字形であつた即殺区の溶存曲線は，だらだら形となり，苦悶死区では，反対にだらだら形からZ字形に近くなつた。きわだつた変化といえるが，果してこれが凍結による変化の特徴といえるかどうかについては，なお検討を要する点が多い。

第一に肉として凍らした場合（実験1）と，分離したミオシン区蛋白ゲルを凍らした場合（実験2）とで，結果が必らずしも同じでないことである。例えばコイの片身はそのまま凍らし，他の片身からはミオシン区蛋白ゲルを分離して凍らすと，苦悶死区の溶存曲線は，いずれの場合も凍結がつづくにつれ，だらだら形からZ字形にかわつているが，即殺区の曲線は，肉を凍らした場合Z字形のものがだらだら形に変わるに対し分離したミオシン区ゲルを凍らした場合は，14 日後でも Z 字形を保つており，凍結の前後で曲線の傾向はたいして変わつていない。この原因としてまず考えられるのは，ミオシン区蛋白が肉中に存在するときと，分離されたゲルとして存在するときでは，環境や水和状態に著しいちがいがあることである。ミオシン区蛋白が肉中に存在するときは，肉の死後変化に基づく生化学的影響の下におかれている。従つて，その凍結中の変化は，凍結そのものによる影響と，肉の生化学的変化にもとづく影響が重なりあつて生じた結果と考え

られる。一方，分離されたミオシン区蛋白ゲルは，肉の生化学的変化の影響からは一応解放されているが，肉中に存在する場合にくらべきわめて高い水和の状態にある。この水和度の高いことは，凍結によつておこるミオシン区蛋白の変性に何か影響があろうと想像はできるが，これによつてミオシン区蛋白の溶存曲線に現われた上記の変化を説明することはむずかしい。検討を要する第二の点は試料の個体差の問題である。コイ肉蛋白は個体差が大きく，即殺区の溶存曲線は常にZ字形であり，苦悶死区のはだらだら形ときめるわけにはいかない。例えば今回の実験1は12月3日，実験3は12月4日に行つたもので，用いたコイは全く同じ季節，同じ群のほぼ同じ大きさのものであるが，実験1の苦悶死区の曲線はだらだら形，実験3ではZ字形を示している。したがつてミオシン区蛋白の溶解度曲線の大体の傾向の変化だけをとりあげても決して簡単に結論できないことがわかる。要するにミオシン区蛋白の塩析現象にみられた変化がどのような機作によつておこるのか，またその変化のうちどれが凍結による特有のものであるかについての結論は，なおいろいろの方面からくりかえし実験した結果にまたねばならない。

しかし，とにかく今回の実験で凍結2日から14日間にミオシン区蛋白に著しい変化のおきたことはたしかである。しかも溶出蛋白量には大差がみられなかつた。比較的短期間の凍結では，蛋白の溶出量に変化のおきないことは，−35°Cで凍らし，−20°Cに12日放置したBaltic herringの肉について行なつたNIKKILÄら[1]の実験でも明らかである。またSEAGRAN[4]がrock fishを−30°Cに凍結し，その温度に貯蔵した実験によると，抽出分離したアクトミオシンの固有粘度は最初の半日に1.70から1.17に，8日間に1.10まで下つているが，アクトミオシンの溶出量はこの間殆んど変わつていない。従つて，溶出量は蛋白の変性をみる目安として最も広く用いられており，また充分その理由があるが，少なくとも肉を短期間凍結した場合の変性をみる目安としては適当でないことがわかる。

塩析曲線にアクチン区分の出現

苦悶死したコイ肉の塩析曲線にアクチン区分の現われることは，さきにわれわれの見出した事実であるが，凍結すると即殺肉にもアクチン区分の現われることが，今度の実験でわかつた。しかし，即殺肉を5°C附近に2日放置した場合にも同じような現象がみられる（未発表）。従つてこれは特に凍結によつてひきおこされた変化とは考えられない。苦悶死区の曲線にアクチン区分の現われるのは，われわれの考え[2]によると，苦悶死肉のATP含量が少ないことに関係がある。すなわち筋肉の死後変化の過程には，アクチンとミオシンとの結合を弱めるような要因が生ずるが，ATPにはこれを抑えるような効果があると想像される。従つて放置によつてATPが消費しつくされると，即殺区の塩析曲線にもアクチン区分が現われてくる。死後変化は凍結中にも徐々にすすみ，今回の例では凍結2日の試料中には*A*/*P*–*P*全くなく，この点に関する限り即殺区の肉も苦悶死区の肉と同じような状態になり，塩析曲線にアクチン区分が現われたものと考えられる。

一方，即殺肉から分離したミオシン区蛋白ゲルを凍結した場合には，アクチン区分が認められない（実験2, Fig. 4）。これは，アクチン出現の理由に関するわれわれの説によれば，つぎのように説明することができる。すなわち，ミオシン区蛋白を分離する操作の間に筋肉中のエキス分が除かれてしまうため，アクチンとミオシンの結合をよわめ，塩析曲線にアクチン区分を出現させる主原因となつている要因が生じないためと考えられる。従つて実験2の結果は，アクチン出現についてのわれわれの説を間接に支持するものといえよう。同様に，凍結1日の苦悶死肉にみられたアクチン区分が，ATPの添加によつて消失したこと（実験6）は，われわれの説によれば，当然期待しうるところである。ところが凍結2日，6日の試料では，ATPの添加にかかわらず，アクチン区分が残つているような結果がえられている。この理由は明らかでないが，おそらく死後変化に基づく筋肉蛋白の変性が時間の経過とともに強くなり，そのため，今更ATPを添加しても回復できぬほどアクチンとミオシンの結合力の低下が，すすんだためではないかと想像される。

塩濃度の増加によつておこる塩析量の減少

塩析分析のさい，硫安の濃度がますと，塩析される蛋白の量がかえつてへる区分がはつきりと認められるのは，凍結による変性と関係があるらしい。今まで凍結以外の場合にも同様な現象があるらしく見えたこと

もあつたが，あまりはつきりしたものでない場合が多い。

よく知られているように，塩類は低濃度では筋肉グロブリンの溶解度をまし（塩溶効果），高濃度では蛋白を溶液から析出させる（塩析効果）。EDSALL[5] がりん酸塩 buffer のイオン強度（$\Gamma/2$）と筋肉グロブリン（ミオシン区蛋白）の溶解度をしらべたところによると，塩溶作用は $\Gamma/2=0.25\sim0.3$ の間で急におこり，$\Gamma/2=0.5$ 近くで最大に達し，塩析効果は $\Gamma/2=2.5\sim3$ において著しく認められる。今回の塩析分析では，ミオシン区蛋白を 0.5M KCl-りん酸塩 buffer（全イオン強度 0.8）にとかし，それに硫安を加えていつた。10% 飽和の硫安はだいたいイオン強度 1 であるから，塩析曲線において硫安の 10% 飽和と示されている系の全イオン強度は 1.8 になる。従つて硫安のごく低濃度の区域を除くと，塩析分析の行なわれた条件の下では，蛋白分子の水和は塩濃度がますにつれて減少していく状態にあると考えられる。従つて塩濃度がますにつれて，塩析される蛋白の量がましていくことは，たやすく予想できるところである。しかし凍結試料にみられたように，硫安の相当濃い濃度区分 $c_1\sim c_2$ の間で，塩濃度がますとかえつて塩析される量がへることは，c_1 で塩析された蛋白のあるものが，特殊な性状をもつていたと考えなければ説明できない。例えば，(1) c_1 で塩析された蛋白のあるものは，塩濃度が c_1 よりますとより溶けやすい成分に解離し，塩濃度が c_2 になると，この成分が塩析されると考えるか，(2) もしこのような解離がおこらないとすれば，蛋白の溶解性に支配的影響をおよぼす分子の水和と荷電が何か特別な状態にあるのではないかと考えられる。(2) の場合には，c_1 で塩析された蛋白のあるものは，水和がかなり大きく，塩濃度 $c_1\sim c_2$ の間では塩濃度の増加によつて脱水的影響を受けても，もし電気的に各蛋白分子が反撥することができるなら，なお蛋白分子を溶解状態に保つに充分に水和をもつと仮定すれば，これが c_1 で塩析されたのも，$c_1\sim c_2$ の間では溶けたままでいられたのも，主に荷電の問題として一応次のように説明できるだろう。すなわち c_1 で塩析されたのは，第 2 次層* に吸着された塩の正負両イオンが釣合いを保つているため，蛋白分子相互に斥力がはたらなかつた結果であり，塩濃度が c_1 から c_2 にます間で溶存状態に保たれていたのは，第 2 次層に新たに塩の両イオンが加わるとともに正負の釣り合いが崩れて，蛋白分子を互いに反撥させる程度の電荷が生じたためではないだろうか。しかしこの二つの考えは，現在のところあくまでも一応の説明であつて，その当否は，c_1 で析出した蛋白のなかに $c_1\sim c_2$ の間で解離するものが実際あるか否か，または水和および荷電の状態の特異なものがあるか否かの実験的証明によつてきまるものであることは，いうまでもない。またなぜ肉を凍結することによつて c_1 の硫安濃度で塩析される蛋白の性状がこのように変わるのか，またなぜ分離したミオシン区蛋白ゲルを凍らした場合には $c_1\sim c_2$ の間で塩析される蛋白の減少が肉を凍らした場合よりも少ないかについては今のところ何もいえない。

摘　　要

1　コイ肉を −15°C で凍結し，その温度に貯蔵すると，2 日，6 日で，ミオシン区蛋白は，硫安に対する溶存曲線や塩析曲線に著しい変化を示しはじめるが，塩溶液に対する溶出度は殆んど変らない。

2　ミオシン区蛋白の硫安に対する溶存曲線や塩析曲線からみると，凍結によつて，即殺肉は凍結前の苦悶死肉に，苦悶死肉は凍結前の即殺肉に近づくような結果がえられた。ただしこれが凍結によるミオシン区蛋白の変性の特徴であるか否かは明らかでない。

3　肉として凍らしたときと，分離したゲルとして凍らしたときとで，ミオシン区蛋白のうける変化は必らずしも同じではない。

---

* 塩溶液中で蛋白分子は反対イオンを吸着して，その固有の電荷を中和し，分子間の斥力を失なうが，塩濃度が蛋白のもつている固有の電荷を中和させる以上（ミオシンの場合 KCl の濃度 0.025M）になると，塩の正負両イオンが第 2 次層に当量吸着される。この場合は当量の正負イオンが吸着されるのであるから，蛋白分子はさしひき電荷をもたぬはずであるが，実際には第 2 次層に吸着された正負両イオンは辛うじて釣り合いを保つている状態で，塩の種類によつて正負いずれかのイオンが優勢となり，蛋白分子は新たにごくよわいながら電荷をおび，それに応じて再び分子間斥力がはたらく場合もある[6]。

4 凍結試料のミオシン区蛋白は，硫安のある濃度区域では，塩濃度がますとかえつて塩析されがたくなる。これは，肉として凍らしても，ゲルとして凍らしてもみられる現象であるが，後の場合にはやや程度がよわい。

5 即殺肉も凍結すると，そのミオシン区蛋白の塩析曲線にアクチン区分が現われる。しかし即殺肉から分離したゲルを凍らした場合にはみられない。またこのアクチン区分は，凍結1日の苦悶死肉の場合，ATPを添加して抽出したミオシン区蛋白には現われない。しかし，このATPの効果は，凍結2日以上の試料についてはみられない。

文　　献

1) Nikkilä, O. E., Linko, R. R.: *Food Research*, **19**, 200 (1959).
2) 右田正男・大竹茂夫: 本誌, **26**, 140 (1960).
3) Snellman, O., Tenow, W.: *Biochem. et Biophys. Acta*, **13**, 199 (1954).
4) Seagran, P. L.: *Food Research*, **21**, 505 (1956).
5) Edsall, J. T.: *J. Biol. Chem.*, **89**, 289 (1930).
6) Szent-Györgyi, A.: "Nature of life—A study of muscle—", Acad. Press. Inc., Publishers (1948).

DECOMPOSITION OF ALGINIC ACID BY MICROORGANISMS—IV. ON THE *VIBRIO*-TYPE BACTERIA, NEWLY ISOLATED FROM THE DECAYING *LAMINARIA*

Yoshiaki Ando and Katsuhiro Inoue*

(Received Dec. 23, 1960)

It has generally been considered that marine microorganisms play a significant role in spontaneous or abnormal decaying of algal body.

In 1959 a great deal of damage was done to the growth of *Laminaria japonica var. ochotensis* Okam. growing in sea water on the coast of Wakkanai city, Hokkaido. Numberless small holes were made in the whole blades of the *Laminaria*. Some of these holes increased in their size and became confluent. Finally the upper part of the blades were degenerated and separated. Hasegawa *et al.*[1] (1959) demonstrated that the disease was attributable to many galls caused by some parasitic fungi. However, they could not clarify the mechanism of the pathogenicity of these fungi.

On the other hand, the present authors isolated a new *Vibrio* type of bacteria from the decaying blades. This organism produces active alginase which seems to play an important role in the degeneration of the *Laminaria*.

The present paper deals with the description of morphological and physiological properties of this new *vibrio* type of bacteria and its pathogenic action on *Laminaria*.

Experimental

About twenty strains of alginolytic bacteria were isolated from the decaying blades of the *Laminaria* and the sea water samples. These strains were provisionally designated as *Vibrio* sp. SO-1 to SO-20.

For the isolation of the bacteria, use was made of a synthetic medium containing alginic acid as a sole source of carbon. The composition of the medium was as follows:

$(NH_4)_2SO_4$	0.5 g.	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1 g.
K_2HPO_4	0.2 g.	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001 g.
NaCl	3.5 g.	Na-alginate	1 g.
Distilled water	100 *ml*	pH	7.2

Pure cultures were obtained from surface colonies on alginic acid agar plates. Each of these strains was found to be typical *Vibrio* according to Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (7th Ed. 1957). The morphology, cultural and physiological properties of *Vibrio* sp. SO-20 strain are given below and its morphological configuration is illustrated in Fig. 1 as an electronmicrograph.

* Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo, Japan. (北海道衛生研究所：安藤芳明・井上勝弘)

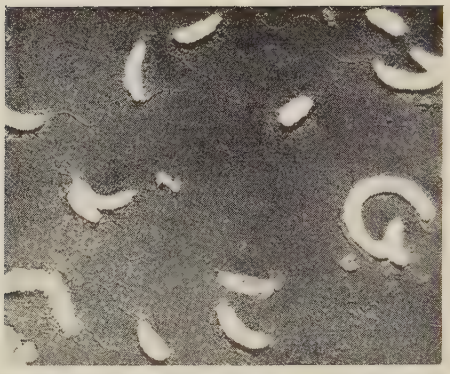


Fig. 1. Electronmicrograph of *Vibrio* sp. SO-20 strain (×6000)

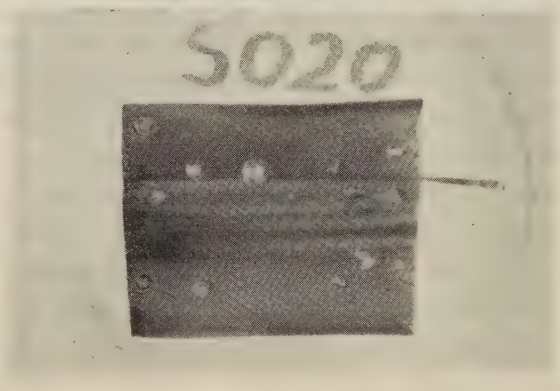


Fig. 2. Alginolysis on the surface of the blade of *Laminaria japonica* with *Vibrio* sp. SO-20 strain. A piece of the cut blades of *Laminaria japonica* was placed in a petri dish with small quantity of sea water and sterilized by irradiation with ultraviolet light. A heavy inocullum of the SO-20 strain was inoculated on the surface of the blade and incubation was done at room temperature for two days.

Description of the bacteria

***Vibrio* sp. SO-20 strain** (provisional name)

Curved rods, 0.3 to 0.5 by 1.4 to 2.8 microns. Actively motile by means of a single, polar flagellum. Not encapsulated. Non-spore-forming. Gram-negative.

No growth on media which do not contain salt. Limit of growth, 0.3 to 6 per cent sodium chloride: optimum; 1 to 2 per cent.

Gelatin stab: Liquefaction. Growth on the surface.

Agar colonies: Circular, entire, smooth convex. Moderate, filiform, becoming faint reddish-orange after a few days.

Agar slant: Transparent or translucent, becoming opaque.

Sea water broth: Thin pellicle; moderate turbidity.

Peptone water: No visible growth.

Litmus milk: Coagulated; peptonization.

Potato: No growth.

Hydrogen sulfide not produced.

Indol not produced.

Acetylmethylcarbinol not produced.

Methyl red test positive.

Citric acid, as well as sodium alginate, can be used as a sole source of carbon.

Nitrites produced from nitrates.

Alginic acid is decomposed with the production of acid and gas.

Acid and gas from glucose, mannose, galactose, fructose, arabinose, maltose, sucrose, dextrin, mannitrol, and lactose (slow). No acid and gas from xylose, raffinose, dulcitol, sorbitol, inositol, salicin, and inulin.

Aerobic, facultatively anaerobic.

Optimum temperature, 25 to 30°C.. Growth range, 10 to 37°C..

Source: Isolated from the decaying marine brown algae (*Laminaria japonica var. ochotensis* Okam.).

Habitat: Presumably sea water.

Considerations

Since Waksman *et al.*[2] (1934) first reported four species isolated from sea water and soil, there have been introduced up to now but a few species of alginic acid decomposing bacteria. Thjøtta and Käss[3] (1947) studied alginase-producing bacteria by using their own designed viscometer and classified them into three new genera; *Alginomonas*, *Alginobacter*, and *Alginovibrio*.

The strains of *Vibrio* described above by the present authors seem to be identical with *Alginovibrio*, of which, however, no description is found in Bergey's Manual.

In considering the remarkable degradation of algal body by SO-20 strain (as shown in Fig. 2), it can be suggested that a rapid multiplication of the bacteria in sea water may be responsible for the disease epidemic which brings about conspicuous damage of the *Laminaria*.

Summary

1) Alginic acid decomposing bacteria were isolated from the decaying blades of *Laminaria*, which were identified as a species belonging to genus *Vibrio*.

2) Morphological and physiological properties of the bacteria were described.

3) The organism, when grown on the blade of *Laminaria*, excretes an active enzyme, capable of degrading the blade almost completely.

Acknowledgement

The authors wish to express their hearty thanks to Prof. K. Hirato of Hokkaido University for his trouble in taking the electronmicrograph and also Dr. H. Iida of this Institute for many valuable suggestions.

References

1) Hasegawa, Y., Komaki, S., and Kanbara, H.: *J. Hokkaido Fish. Sci. Institute*, Ser. **16** (9), 341 (1959).

2) Waksman, S. A., Carey, C. L., and Allen, M. C.: *J. Bact.*, **28**, 213 (1934).

3) Thjøtta, Th., and Käss, E.: *C. A.*, **41**, 791 (1947).

微生物によるアルギン酸の分解—V.
Vibrio sp. SO-20 のアルギナーゼについて

安藤芳明・井上勝弘

(1960 年 12 月 23 日受理)

DECOMPOSITION OF ALGINIC ACID BY MICROORGANISMS—V.
ON THE ALGINASE OF *VIBRIO* SP. SO-20 STRAIN

Yoshiaki Ando and Katsuhiro Inoue*

The present paper deals with the alginase action of the alginic acid decomposing bacteria, *Vibrio* sp. SO-20 strain, reported in the previous paper.

The results are summarized as follows:

1) The bacteria produced adaptively an enzyme, "alginase", when grown on the synthetic medium containing alginic acid as a source of carbon. The crude enzyme was prepared from three day's culture on such medium.

2) The enzyme was found to belong to a so-called halophylic enzyme.

3) The optimum pH of the enzyme was 7.0~7.2.

4) The enzyme seems to be similar to "algin depolymerase" reported by Eppley and Lasker; in the alginase reaction a remarkable decrease of viscosity was observed before a small quantity of reducing sugar slightly appeared.

5) From the paper-chromatograph of the end-products of the alginase reaction, it was found that the enzyme hydrolyzed alginic acid to some oligouronides but not to free mannuronic acid.

緒　　言

細菌の産生するアルギナーゼに関しては，従来 Waksman ら[1]，遠藤[2]，吉川[3] らが海洋細菌について，Kooiman[4] が土じょう細菌について，また井上[5]，山口[6] らが腸内細菌群について各報告している。しかもこれらの細菌アルギナーゼは，その産生される細菌によつてそれぞれ若干異なつた性質を有しているようである。

著者らは前報[7] において，腐敗コンブより分離した *Vibrio* 型アルギン酸分解菌について報告したが，今回本菌の産生するアルギナーゼについて実験し，併せて在来のアルギナーゼと比較検討を行なつたので，その結果について報告する。

実　　験

使用細菌　*Vibrio* sp. SO-20　その性状については前報[7] に記載した。

酵素液の調製　菌の培養条件による酵素活性を比較する実験においては，単に培養ろ液または菌体破壊液をもつて酵素液としたが，酵素の性状をみるための実験においては，次の操作により精製した酵素液を使用した。

本菌を合成培地に 30°C，1 週間培養した培養液 1*l* を苛性ソーダで pH 7.0 に中和しておき，これに 2M

* 北海道衛生研究所 (Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo. Japan).

酢酸カルシウム液を滴下しながらかきまぜると，未分解アルギン酸およびポリウロナイドがカルシウム塩となつて析出する。このさい pH が低下するので中和しながら滴下を続け（pH 6.0 以下になると酵素の損失が大きい），上澄液に最早沈でんが析出しなくなつたとき滴下を止める（通常 10～20 ml）。この操作によつて菌体も同時に吸着されて沈でんするから，この後少量のセライトを加えて吸引ろ過することにより，単時間に容易に澄明なろ液が得られる。このろ液に硫安を 0.8 飽和に加えて塩析し，析出した沈でんを少量の水にとかし水道水で 48 時間透析する。透析液に酢酸カルシウムを M/200 になるように加え，これに 3 倍量の冷アセトンを加えると酵素は沈でんする。これを分離し，乾燥すると白色粉末となり，使用に当り適用量の水に溶解して酵素液となした。

作用液の組成および作用条件　組成は作用液 10 ml 中，0.5% アルギン酸ソーダ 4 ml，6% 食塩含有リン酸塩緩衝液（M/15，pH 7.2）5 ml，酵素液 1 ml とし，作用条件は 30°C において 30 分または 1 時間作用させた。

酵素作用力および作用力価　従来アルギナーゼの作用力決定には，基質の粘度低下と還元力の増加の 2 つを目安にしているが，本菌のアルギナーゼは後述のごとく還元力の生成能はごくわずかであるので，主として前者の測定法を採用した。すなわち，OSTWALD 粘度計を使用して 30°C における作用液の流下速度を測定し，これより次式によつて粘度低下率 A を求めた。

$$A\,(\%) = \frac{T_a - T}{T_a - T_0} \times 100$$

T_a: 加熱により不活性化した酵素液を使用したときの作用液の流下速度（秒）

T: 酵素液を使用した作用液の流下速度（秒）

T_0: 基質の代りに水を加えたときの流下速度（秒）

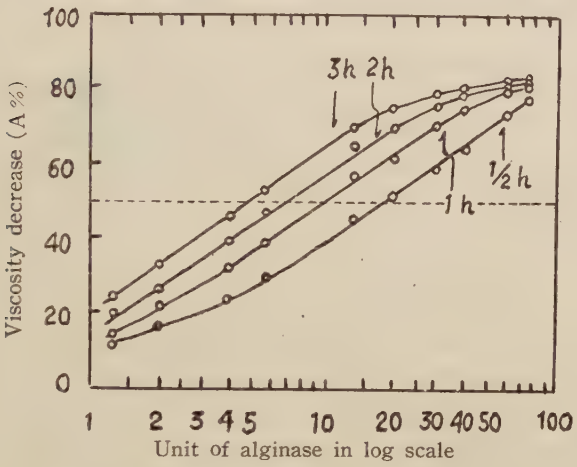


Fig. 1. Standard curves of alginase activity in various reaction time.

つぎに酵素液の作用力を比較する場合，粘度低下率 A 値のみでは酵素濃度が高くなると不可能である。そこで酵素濃度と作用力との関係から作用力価を定める必要がある。ROBOZ[8] らが pectin depolymerase について行なつた方法にならい，酵素相対濃度の対数値と A 値との関係をみたところ，Fig. 1 に示すような比例関係が得られた。よつてこの直線部分を酵素力価表示の基準に利用した。すなわち前記作用液組成，条件において，作用液 5 ml の粘度を 30°C で 1 時間に 50% 低下させるような酵素液濃度をもつて 10 単位（酵素液 1 ml 当り）とした。

還元力の測定　WILLSTÄTTER u. SCHUDEL 法の改良法[9] によつて行ない，また作用力の表示には作用液 1 ml に対する 0.02N ヨード液の所要 ml 数をもつてした。

結　　果

1) アルギナーゼ産生に対する培養条件

i) 培養時間の影響　アルギン酸を唯一の炭素源とする合成培地に静置培養し，一定時間ごとに培養液 5 ml をとり出し，これを菌体外酵素（培養液を遠沈した上清）と菌体内酵素（遠沈菌体を更に食塩水で 2 回洗浄した後，凍結融解法を 5 回繰り返えして菌体を完全に破壊し，最後に 5 ml の水にとかす）に分けて作用力価を測定した。その結果は Table 1 に示すとおりであり，培養開始後約 3 日間でほぼ一定の力価を示すことが分かつた。

Table 1. Influence of period of cultivation on the enzyme production.

Time of culture (hour)	12	24	72	120	168
Final pH of culture medium	6.40	5.30	5.45	5.40	5.38
Activity of exo-enzyme (U/m*l*.)	3.1	50.0	96.0	93.0	102.0
Activity of endo-enzyme (U/m*l*.)	0	1.0	2.0	2.0	2.3

Medium used: NH_4Cl 1%, K_2HPO_4 0.2%, NaCl 2%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ trace, Na-alginate 1%, pH 7.2～7.4.
Cultural condition: One hundred m*l* of the medium was placed in three hundred m*l*. volume of erlenmyer flask, sterilized, inoculated and incubated stationary at 30°C.

ii) 炭素源の影響　培地中の炭素源を種々変えて培養し，72 時間における酵素力価をしらべた。その結果は Table 2 に示すとおりである。これによると，アルギン酸またはその酵素分解物以外の炭素源では発育は充分行なわれるが，アルギナーゼの産生が全くみられない。すなわち本菌のアルギナーゼ産生は，適応的性格を有しており，この点 WAKSMAN らの報告している海洋細菌がアルギン酸以外の炭素源によつてもアルギナーゼを産生し，酵素の産生が構成的であるのと大いに異なる。

Table 2. Influence of carbohydrates as carbon source on the enzyme production.

Carbohydrate	Arabinose	Glucose	Mannit	Maltose	Soluble starch	Na-alginate	Enzymatic digest of alginic acid
Final pH of culture medium	4.45	4.40	4.60	4.62	4.93	5.43	7.10
Activity of exo-enzyme (U/m*l*.)	0	0	0	0	0	96	6
Activity of endo-enzyme (U/m*l*.)	0	0	0	0	0	1	0

iii) 窒素源の影響　炭素源はアルギン酸とし，窒素源を種々変えて培養し，前と同様に 72 時間における酵素力価をしらべた。その結果は Table 3 に示すとおりである。これによると，酵素産生は無機窒素の方が有機窒素より有効であるが，一般に硝酸塩はあまり良好でない。

Table 3. Influence of nitrogen source on the enzyme production.

Nitrogen source	Peptone (Mikuni)	Casamino acid (Difco)	$(NH_4)_2SO_4$	NH_4Cl	NH_4NO_3	$NaNO_3$
Final pH of culture medium	7.82	7.89	6.48	6.40	5.90	6.30
Activity of exo-enzyme (U/m*l*.)	108	112	132	150	60	20.4
Activity of endo-enzyme (U/m*l*.)	6	1.5	3.1	2.4	1	1.1

iv) 食塩濃度の影響　本菌は食塩を全く含まない培地にはほとんど生えない。そこで合成培地の食塩濃度と酵素産生との関係をしらべたところ，Table 4 に示す結果が得られ，食塩濃度は 1% が最適であつた。

Table 4. Influence of salt concentration on the enzyme production.

Concn. % of NaCl	0.3	1.0	2.0	3.0	4.0	6.0
Final pH of culture medium	5.45	5.40	5.32	5.28	5.28	6.20
Activity of exo-enzyme (U/m*l*)	120.0	125.0	95.0	57.5	39.0	15.0
Activity of endo-enzyme (U/m*l*)	4.4	6.3	4.2	3.7	2.7	2.3

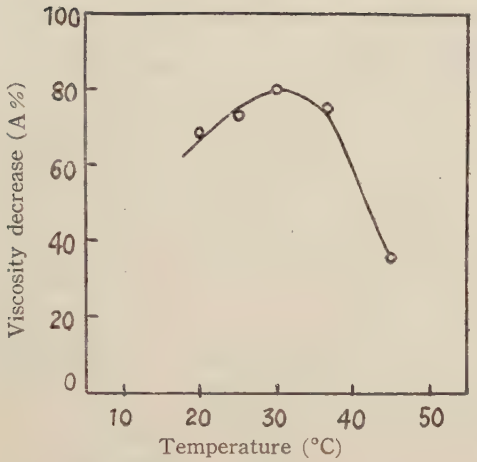


Fig. 2. Influence of temperature on alginase activity.

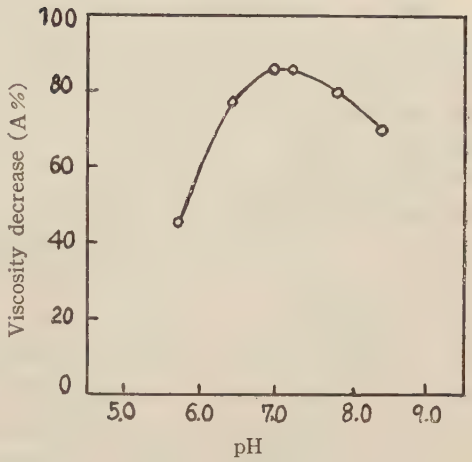


Fig. 3. Influence of pH on alginase activity.

2) アルギナーゼ作用

i) 温度の影響　約 60 単位の酵素液を使用し，種々の温度に 1 時間作用させて作用力をしらべた。その結果は Fig. 2 に示すとおりであり，作用温度 30°C において最も活性であつた。

ii) pH の影響　種々の pH を有する 6% 食塩含有リン酸塩緩衝液をもつて作用液を調製し，前と同様の方法で作用力を測定して酵素作用におよぼす pH の影響をしらべた。その結果は Fig. 3 に示すとおりであり，至適 pH は 7.0～7.2 であつた。

iii) 食塩濃度の影響　作用液中食塩の濃度を種々変えて前と同様作用力をしらべた結果は，Fig. 4 に示すとおりであり，至適濃度は大体 3% であつた。すなわち，本アルギナーゼは一種の好塩性酵素に属する。一般に好塩性酵素は食塩の存在で安定性を示すことが知られている。そこで本酵素液の保存時における食塩の酵素安定性におよぼす効果をみるため，一定力価を有する酵素液に食塩を種々の濃度に加えて 20°C に保存し，一定時間後の酵素単位の変動をしらべた。その結果は Table 5 に示すとおりであり，食塩濃度の増加とともに酵素の安定性がみられた。

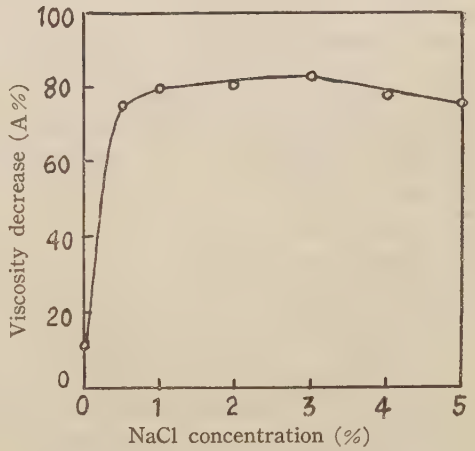


Fig. 4. Influence of salt concentration on alginase activity.

Table 5. Effect of salt concentration in enzyme solution on the lowering of the enzyme activity.

Time of preservation (day) / Concn. % of NaCl	0	5	20
0	400 U/ml	360 U/ml	235 U/ml
0.5	〃 〃	390 〃	320 〃
1.0	〃 〃	〃 〃	380 〃
3.0	〃 〃	〃 〃	390 〃

iv) 酵素作用の時間的経過　作用時間の経過による作用液の粘度低下，還元力の増加，試薬による凝固・沈でん現象などをしらべた。このさい比較的低単位の酵素液 (9 U/ml) を使用すると，Table 6 に示すごとく反応はゆつくり

Table 6. Action of alginase (9 U/*ml*) on alginic acid with the elapse of reaction time.

Time of reaction (hour)	0	1/4	1/2	1	3	6	12	24	48	72	120
Rate of viscosity (A%)	0	22.4	33.9	48.0	66.8	75.6	82.0	86.4	89.4	90.0	90.7
Reducing power (m*l*)	0	0	0	0	0	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	0.04
Coagulation with HCl-ethanol	##	##	##	##	##	#	+	+	+	+	±
Precipitation by $CaCl_2$	##	##	##	##	##	#	#	#	#	#	#

Change of viscosity was measured by OSTWALD's viscosimeter at 30°C.
Increase of reducing power is represented as m*l*. of 0.02N I_2 solution consumed by 1 m*l*. of reaction mixture.

進行し，48 時間で A 値は 90% に達するが，このときようやく還元糖がわずかに出現し，それ以後の増加は両者とも極めて緩慢である。また高単位の酵素液 (200 U/m*l*) を使用すると，Table 7 に示すごとく単時間のうちに A 値は 90% に達し，このとき同様に還元糖がわずかに出現し，更に A 値が徐々に上昇して 96% に達すると還元糖もほぼ一定値を示した。塩酸酸性エタノールによる凝固は，A 値が 90% 以上になるとほとんど消失するが，塩化カルシウムによる沈でんは，反応の後期に至つてもなお残存していた。

Table 7. Action of alginase (200 U/*ml*.) on alginic acid with the elapse of reaction time.

Time of reaction (hour)	0	1/5	1/3	1/2	1	3	6	12	24	72	120
Rate of viscosity (A%)	0	80.6	85.1	87.2	90.5	93.8	94.1	95.1	95.9	96.6	97.2
Reducing power (m*l*.)	0			0.02	0.03	0.06	0.07		0.08	0.08	0.07
Coagulation with HCl-ethanol	##	#	#	+	+	±	±	±	±	−	−
Precipitation by $CaCl_2$	##	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+

v) 酵素反応の最終分解生成物　本アルギナーゼのアルギン酸分解における最終分解生成物を知るため，120 時間作用液についてペーパークロマトグラフィーを行なつた。すなわち作用液 10 m*l* をとりこれに希硫酸を加えて凝固する物質を除去した後，水酸化バリウムを加えて生ずる沈でんをろ別し，そのろ液を減圧濃縮して少量となし，クロマトグラフィー用試料とした。その結果は Table 8 に示すとおりであり，分解生成物中に遊離のマンヌロン酸の存在は認められなかつた。スポットの Rf 値あるいは色調からみて，一種のオリゴウロナイドと思われる物質が最終分解生成物と考えられるが，これについては今後更に検討を要する。

Table 8. Paper chromatography of the end-products.

Sample	Rf	Color of spot
No. 1	0.18～0.21	Pink
〃 2	0.22	〃
d-Mannuronolacton	0.40	Brown
Ba-d-mannuronate	0.30	〃

Barium-soluble products of reaction mixture were developed on Toyo-Roshi's No. 50 filter paper with the solvent; *n*-butanol, acetic acid, and water (5: 2: 3). The spots were revealed by aniline-phthalate.

考　　察

今日まで報告されているアルギナーゼは，産生源によつて水産動物（アワビ，ウニなど）および細菌のアルギナーゼに二大別される。また細菌については，海洋，土じょう，腸内の各細菌アルギナーゼに別けられる。一方，これらのアルギナーゼは，その産生状態，作用機構などによつても区別され得るもので，今これまでに報告されているものについて整理・比較すると Table 9 のようになる。すなわち，アルギナーゼはその作用機構から大きく好塩性グループ（水産動物，海洋細菌）と，非好塩性グループ（土じょう細菌，腸内細菌群）に分けられる。

Table 9. Comparison of alginase obtained from various organisms.

Organisms	Opt. pH	Activation with NaCl	Enzyme production	End-product	Literature
(Marine animals)					
アワビ *Haliotis giganteus* Gm.	7.2	+			OSHIMA, K.[10]
ウニ *Strongylocentrotus purpuratus* (gut content)	7.2～7.3			No reducing sugar	EPPLEY, R.W. and LASKER, R.[11]
〃 〃 (gut wall)	4.0		Precursor of alginase	〃	〃
(Bacteria)					
Aerobacter aerogenes Y-11	7.6	−	Adaptive	Mannuronic acid	INOUE, K.[5]
Soil bacteria	7.0～7.5	−		〃	KOOIMAN, P.[4]
Marine bacteria	7.0	+	Constitutive	Oligouronide	WAKSMAN, S. A. and ALLEN, M.C.[1]
Vibrio sp.	7.0～7.2	+	Adaptive	〃	This Journal

また最近 EPPLEY and LASKER[11] はウニ *Strongylocentrotus purpuratus* の消化器およびその内容物のアルギナーゼを研究し，その酵素作用が粘度低下のみで還元糖の生成を伴なわない事実から，従来のアルギナーゼとは区別さるべきものであるとなし，ペクチン分解酵素の分類にならつて，これを "algin depolymerase" と呼び，従来の遊離のマンヌロン酸にまで分解し得るものを algin polymannuronase" と呼んでいる。

今回著者らの分離した *Vibrio* sp. SO-20 のアルギナーゼ作用をみると，作用初期において粘度低下はいちじるしいが，還元糖の生成はほとんどなく，しかも粘度低下率が 90% 以上になつてほんのわずか出現するに過ぎない。これは酵素力価を 10 倍以上増した場合でも同様であり，粘度低下は急激に増加するが，還元糖の生成はそれほど大差ない。すなわち本アルギナーゼのアルギン酸分解様式は，pectin depolymerase のそれに類似し，まずウロン酸のグルコシド結合を at random に切断し（このとき初期粘度低下が起ると考えられる），順次小分子のウロナイドに分解していくものと考えられる。なお最終分解生成物は，WAKSMAN[1] らの結果と同様に遊離のマンヌロン酸は認められなく，一種のオリゴウロナイドと推定されるが，これがどんな物質であるかは今後の研究にまたねばならない。

総　　括

海洋細菌 *Vibrio* sp. SO-20 の産生するアルギナーゼについて研究して次の結果を得た。

1) 本菌をアルギン酸を炭素源とする合成培地に培養すると，アルギナーゼを適応的に産生する。

2) 該アルギナーゼは好塩性酵素に属する。

3) アルギナーゼ作用の至適 pH は，7.0～7.2 である。

4) 該アルギナーゼは液化型酵素 "algin depolymerase" に類似し，その作用は主に粘度低下に関与し，還元糖の生成能は僅少である。

5) 該アルギナーゼによるアルギン酸分解の最終生成物は，遊離のマンヌロン酸ではなく，一種のオリゴウロナイドと推定される物質である。

文　　献

1) WAKSMAN, S. A. and ALLEN, M. C.: *J. A. C. S.*, **56**, 2701 (1934).
2) 遠藤庄三：植物誌，**55**，39 (1941).
3) 吉川三吉：兵庫農大研究報告，**1**，53 (1954).
4) KOOIMAN, P.: *Bioch. et Bioph. Acta*, **13**, 338 (1954).
5) 井上勝弘：農化誌，**31**，798 (1957).
6) 山口和夫：農化誌，**32**，483 (1958).
7) ANDO, Y. and INOUE, K.: 本誌 **27**, 338 (1961).
8) ROBOZ, E., *et al.*: *J.B.C.*, **195**, 459 (1952).
9) JANSEN, E. F. and MAC DONNEL, L. R.: *Arch. Bioch.*, **8**, 97 (1945).
10) 大島幸吉：農化誌，**7**，332 (1931),
11) EPPLEY, R.W. and LASKER, R.: *Science*, **129**, 214 (1959).

幽門垂蛋白分解酵素に関する研究—V.

メバチ幽門垂蛋白分解酵素の結晶分離

斗ヶ沢宣久・勝又悌三・栗谷川正光・田中秀雄

(1961 年 1 月 12 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—V. PREPARATION OF CRYSTALLINE PROTEINASE FROM THE PYLORIC CAECA OF BIGEYE TUNA, *PARATHUNNUS SIBI*

Yoshihisa Togasawa, Teizo Katsumata, Masamitsu Kuriyagawa and Hideo Tanaka*

The proteinase in the pyloric caeca of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, was isolated according to the procedure described in Fig. 1 in a crystalline state (Fig. 2).

Total activity of the crystalline enzyme corresponded to 2.7% of that of the original water extracts, and the specific activity of it was 21.1 times as high as that of the water extracts (Table 2).

前報[1-3]において鮪および鰹幽門垂 proteinase を結晶として分離し報告したが，このたびメバチ *Parathunnus sibi* Temminck et Schlegel 幽門垂の proteinase を結晶状に分離したので，その結果を報告する。

実 験 の 部

三陸沿岸で水揚げされた新鮮なメバチの磨砕幽門垂 1400g に 3 倍量の蒸留水を加え，抽出液をガーゼおよび脱脂綿で沪過して得た不透明酵素液を原液とし，以下前報[3]に準じ，Fig. 1 に示す方法で proteinase

Fresh bigeye tuna pyloric caeca
distilled water extraction
Filtrate (A)
celite filtration
Filtrate (B)
adsorption with Amberlite XE-64
Enzyme-adsorped resin
removal of amylase
Protease-adsorped resin
elution of protease
Elute 1 (C)
Elute 2 (D)
salting-out
Precipitate
dissolution in distilled water and decolorization with Duolite A-2 and then dialysis
Filtrate (E)
treatment with rivanol and fuller's earth
Filtrate
addition with acetone to 80%
Precipitate
dissolution in distilled water
Supernatant
treatment with acetone
Crystal (F)

Fig. 1. Simplified scheme of crystallization procedure of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca proteinase.

* 岩手大学農学部 (Fac. Agr. Iwate Univ., Morioka, Japan).

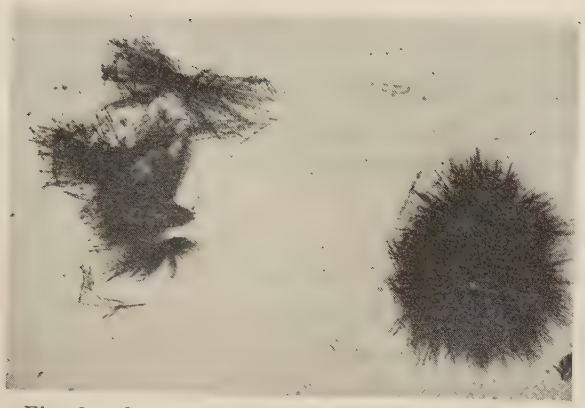


Fig. 2. Crystals of the proteinase obtained from bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca (× 300).

の精製を行なつた。すなわち，Duolite A-2 脱色を透析前に行ない，透析直後に rivanol (0.06%)－酸性白土 (1%) で処理し，最後に冷所アセトン処理して得られた結晶 proteinase を冷 55% アセトン 1 m*l* で攪拌洗滌，遠心分離により洗液を捨て，この操作を 3 回繰返した後真空乾燥して結晶 proteinase 18 mg を得た (Fig. 2)。酵素力測定のさいはこれを 0.1 N ammonium buffer (最終 pH 6.0) に溶解し供試した。このさい酵素力測定法，酵素単位表示法，酵素純度表示法，イオン交換樹脂の調製などはすべて前報[1-5] に従つて行ない，精製過程における proteinase の酵素力を Table 1 に示した。また proteinase の各過程における収量（酵素原液中の酵素単位で各精製過程における酵素単位を除し，これを百分率で表わしたもの）ならびに比活性度 (proteinase unit/protein-N mg) は Table 2 のごとくである。なお表中，収量，比活性度は前報[5] 記載に従い算出した。その結果によると，結晶 proteinase の収量は酵素原液に対して 2.7%，比活性度は 21.1 倍であつた。

Table 1. Activities of fractions of the proteinase.

Fractions / Hrs. of hydrolysis	A	B	C	D	E	F
1	0.06	0.06	0.11	0.08	0.08	0.07
2	0.12	0.15	0.13	0.10	0.11	0.09
3	0.17	0.20	0.17	0.14	0.15	0.10
6	0.24	0.26	0.24	0.18	0.18	0.13
20	0.42	0.46	0.45	0.42	0.40	0.24

Figures denote m*l* of N/100 alc. KOH.
A: Original distilled water extracts of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca.
B: Celite filtrate of A.
C: Elute 1.
D: Elute 2.
E: Dialyzed proteinase solution, diluted to 1/5 in the case of measurement of proteinase activity.
F: Crystalline proteinase solution.

Table 2. Yields and specific activities of fractions of the proteinase.

	A*	B*	C*	D*	E*	F*
Volume (m*l*)	4550	4250	500	500	160	100
Total protein N (mg)	2219.5	869.6	165.2	110.2	90.6	2.7
Total proteinase unit	364000	340000	73333	53333	85333	9333
Yield (%)	100	93	20.1	14.7	23.4	2.7
Specific activity	164	391	444	483	942	3457
Ratio of specific activity to A	1	2.4	2.7	3.0	5.7	21.1

* See the foot-notes in Table 1.

要　　約

メバチ膵破砕幽門垂の水抽出液を珪藻土沪過し，Amberlite XE-64 を用いて酵素を吸着させ，amylase 除去，proteinase 溶出，硫安塩析，Duolite A-2 脱色，透析，rivanol－酸性白土処理，アセトン沈澱を経て，結晶 proteinase を得た。収量は酵素原液に対して 2.7%，比活性度は 21.1 倍であつた。

文　　献

1) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**25**，122 (1959).
2) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**25**，402 (1959).
3) 斗ケ沢宣久・勝又悌三・石川雅司：本誌，**25**. 470 (1959).
4) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**23**，157 (1957).
5) 斗ケ沢宣久・勝又悌三：本誌，**23**，163 (1957).

METABOLISM OF RADIONUCLIDES IN FISH—I. STRONTIUM-CALCIUM DISCRIMINATION IN GILL ABSORPTION*

Ryushi Ichikawa and Mikio Oguri**

(Received Jan. 25, 1961)

Studies on the metabolism of strontium and calcium in various food organisms can present useful knowledge for the quantitative estimation of probable deposition of strontium-90 in human body through different kinds of food chains. As for mammals, many studies have been reported already by Comar and his co-workers[1)-4)] in detail on the behaviour of these minerals in the important physiological processes such as absorption, secretion and excretion. Concerning the aquatic animals such as fishes, however, few studies have been made fully on these points.

On the other hand, it is well known that the gill of fish, in addition to the digestive tract and kidney, takes a great role in absorption and excretion of nutrient minerals[5)]. In the studies on the metabolism of calcium and strontium in fishes, therefore, a great attention should be directed also to the behaviour of these minerals in the gill absorption. Taking this into consideration, a special perfusion technique was applied on the measurement of strontium absorption relative to calcium at the gill of fish, using Sr-89 and Ca-45 as tracers.

Experimental

Materials: Japanese eel, *Anguilla japonica*, was used in this perfusion experiment for the following reasons. The eels are suitable for the gill perfusion technique because the narrow gill slit of this fish can be connected to the circulation system of the environmental water. Secondly, as this fish is euryhaline, they can be adapted to the both environmental media of sea water and fresh water. Therefore, the behaviour of strontium and calcium both in sea water fishes and in fresh water ones can be investigated using the same species. The fresh water eels were obtained through a fishmonger, while the marine eels were collected at the Atsumi Bay of Aichi Prefecture and have been reared in sea water until used in the present perfusion experiment.

Method of gill perfusion: The eels weighing 150 to 200 gm. were anesthetized by quinaldine and perfusion experiments were carried out, using the apparatus shown in Fig. 1. This apparatus was modified from Key's[6)] and Schiffman's[7)] and consists of double perfusion system in which the internal perfusion medium enters the bulbus arteriosus adjacent to the heart and is collected from dorsal aorta, whereas the ex-

* Presented to the 2nd General Meeting of the Japan Radiation Research Society, Kyoto, Nov. 1960.

** National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan (放射線医学総合研究所).

ternal perfusion medium is led into buccal cavity and collected from the branchial slit.

As the external perfusion medium, sea water containing 398 mg. Ca per 1000 ml. and artificial fresh water* containing 10 mg. Ca per same volume were used for the sea water and fresh water eels, respectively. These perfusion solutions were labelled with strontium-89 and calcium-45 (total activity; about 7×10^4 cpm/ml). Being added the stable calcium contained as carrier, the final amounts of calcium in perfusing sea water and fresh water were 498 mg. and 100 mg. per 1000 ml., respectively. This labelled external medium water was poured into separating funnel fixed at the height of about 30 cm. from the fishes and led into the buccal cavity via vinyl tube and injector. After flowing round the gills, the perfusion medium was recovered through the collecting vinyl tube connected with the gill slit. To prevent the leakage, the mouth was kept closed tightly with three forceps and the part of the collecting tube inserted to the gill slit was connected with the mucous membrane of operculum by placing the rubber membrane as shown in Fig. 1.

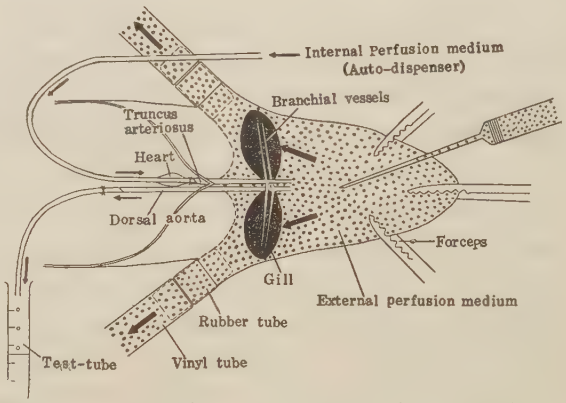


Fig. 1. Schematic view of perfusion apparatus.

On the other hand, the internal perfusion medium was introduced into blood at the bulbus arteriosus via vinyl tube with the aid of pulsation of autodispenser. The flow speed of the medium was about 1 ml. per minute. After circulating into the branchial arteries, capillaries of gills and branchial veins, the medium was led to the test tube at the dorsal aorta via vinyl tube. During this perfusion process, the uptake of strontium and calcium from the external to internal medium should occur at the gill membrane. At the beginning of experiment, the blood in the above mentioned vessels was flown out and replaced with the perfusion medium, after injecting heparin as anti-coagulant. As this internal perfusion medium, the KEY's physiological saline solution given in foot-note** was used.

The activity of strontium-89 and calcium-45 in perfusates collected successively in test tube, was measured separately using aluminium absorber. The ratios of strontium-89 to calcium-45 in these perfusates were compared with those in the external perfusion medium. The strontium-calcium discrimination factor at the gill absorption

* This artificial fresh water contains 10 mg. Ca, 10 mg. Na and 0.5 mg. Mg per 1000 ml. of distilled water.

** 7.86 gm.NaCl, 0.316 gm. KCl, 0.24 gm. $CaCl_2$, 0.4 gm. $NaHCO_3$, 0.9 gm. glucose and 0.5 gm. urea were dissolved in 1000 ml. of distilled water.

($DF_{gill\ absorption}$) defined as Sr/Ca in the perfusate:Sr/Ca in external perfusion medium, was calculated.

Results and Discussion

Five fresh water eels and other five marine ones were used in the course of experiments on the gill perfusion. As a part of results obtained, the activity of strontium-89 and calcium-45 in each perfusate collected successively in the two examples is shown in the upper half parts of the Fig. 2 and Fig. 3. In the lower half parts of these figures, the ratio between these activities (strontium-89:calcium-45) in the

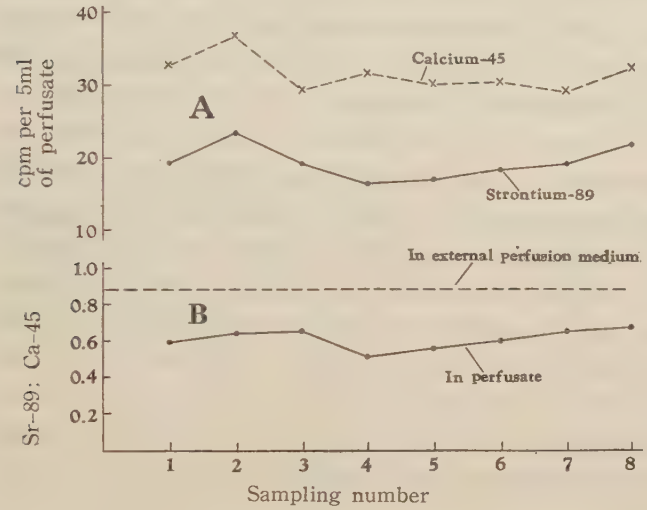


Fig. 2. Sr-89 and Ca-45 activity (A), and the ratio (B) in each perfusate collected from dorsal aorta of fresh water eel (No. 1).

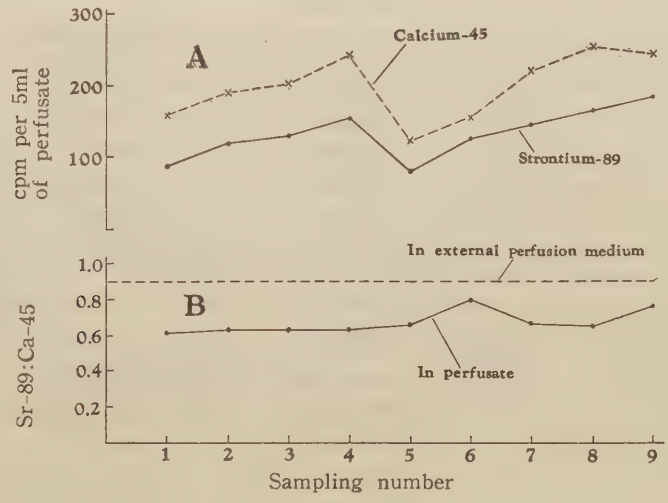


Fig. 3. Sr-89 and Ca-45 activity (A), and the ratio (B) in each perfusate collected from dorsal aorta of marine eel (No. 1),

perfusates and that ratio in external medium are plotted. From these figures, the following conclusion can be obtained. Although the amount of strontium and calcium absorbed fluctuates somewhat with time during the perfusion experiment, the ratios

between the amounts of these minerals absorbed show similar values among each perfusate collected, in other words, the absorption of strontium increases or decreases in proportion to that of calcium. The fact that the values of the ratio of strontium to calcium in the perfusates are found to be always below those in the external perfusion medium as shown in Figs. 2 and 3, indicates the presence of discrimination against strontium at the gill absorption of strontium and calcium. In other words, gills can absorb calcium more favorably than strontium.

As for mammals, many studies have been reported on the strontium-calcium discrimination factor at various important physiological processes such as the gastrointestinal absorption, urinary excretion and placental transfer. According to Comar *et al.*[1),2)], for example, strontium-calcium discrimination factor at the time of intestinal absorption is 0.34 in rat and 0.78 in man, whereas this factor in the urinary excretion is 0.86 and 0.87 in rat and man, respectively. In mammals strontium and calcium are taken from their food only, but in fishes these minerals are taken not only from the food but directly from the environmental water through the gill membrane. Tomiyama *et al.*[8)] reported that fishes took the most part of nutrient calcium directly from environmental water, showing the experimental result that gold fish feeding on the worm absorbed calcium directly from the environmental water about 50 times as much as from diet. Schiffman[9)] reported also about this fact with the result that fishes took strontium from water about 10 times as much as from diet.

Table 1. Strontium-calcium discrimination factor in the gill absorption of Japanese eel, *Anguilla japonica*

A) Fresh water fishes

Fish No.	Sr-89:Ca-45 in artificial fresh water	Sr-89:Ca-45 in the prefusate collected from dorsal aorta	$DF_{gill\ absorptive}$
1	0.895	0.670	0.75
2	0.834	0.641	0.77
3	0.518	0.372	0.72
4	0.518	0.380	0.73
5	0.517	0.367	0.71
		Mean	0.74±0.02

B) Marine fishes

Fish No.	Sr-89:Ca-45 in sea water	Sr-89:Ca-45 in the perfusate collected from dorsal aorta	$DF_{gill\ absorptive}$
1	0.884	0.611	0.69
2	0.946	0.642	0.68
3	0.945	0.627	0.66
4	0.784	0.533	0.68
5	0.887	0.583	0.66
		Mean	0.67±0.01

The values of $DF_{gill\ absorptive}$ obtained in the present experiments using ten examples of eels are shown in Table 1. In the fresh water eels, $DF_{gill\ absorptive}$ is 0.74 ± 0.02, whereas this factor is 0.67 ± 0.01 in the marine eels. Therefore, in the gill absorption of these minerals, the marine eels discriminate against strontium at higher rate than the fresh water eels do. This remarkable difference in the discriminating rate observed at the gill absorption between marine eels and fresh water ones seems to be caused from the different amount of calcium and strontium in the external perfusion medium.

Rosenthal[10),11)] reported using fresh water fishes such as zebra fish (*Danio*), white cloud mountain fish (*Tanichthys*) and guppy (*Lebistes*), that strontium-calcium "observed ratio"* in water and fish body was almost 1.0, namely, no discrimination was observed between these minerals. On th eother hand, Boroughs *et al.*[12),13)] obtained 0.5 as this "observed ratio" in case of *Tilapia* reared in sea water.

In the previous report of the authors[14)], the rate of discrimination between Sr and Ca taken from diet and environmental water was investigated using rainbow trout, *Salmo gairdnerrii irideus*. And 0.4 as the "observed ratio" between water and fish body was obtained when fish took these two minerals from water. Furthermore, the strontium-calcium observed ratio between marine fish and sea water was estimated using strontium-calcium ratio in several marine fishes and the values 0.2 to 0.3 were obtained in disregard of uptake from food. Consequently, the value of strontium-calcium observed ratio between fish body and environmental water also seems to be higher in case of fresh water, in other word, rate of discrimination is less in fresh water. This result coincides with the result of present investigation on the discrimination factor above discussed.

The amount of strontium and calcium, and the ratio in fresh water are quite variable according to the type of water such as ground water and tap water, and also to the sampling places.[15)] In the present experiment, accordingly, no stable strontium was added to the artificial fresh water except for that contained (0.016%) in the chemical reagent, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$. Further investigations, however, are being carried out on the behaviour of strontium and calcium in the gill absorption in case of fresh water eels, using various artificial fresh water medium containing different amount of strontium and calcium. It is necessary, furthermore, for the metabolic studies on strontium and calcium to investigate the behaviour of these minerals in such other important physiological processes as intestinal absorption, gill excretion, and urinary excretion. These investigations will be conducted in near future in our laboratory.

---

* Sr-Ca-"observed ratio" is defined as below;

$$O_R \text{ water-fish} = \frac{\text{Sr/Ca in fish}}{\text{Sr/Ca in water}}$$

while, "Discrimination factor" is applied to a single physiological process such as intestinal absorption, renal excretion etc.

Summary

To investigate the behaviour of strontium and calcium at the gill absorption of fishes, gill-perfusing experiments were conducted using the fresh water or sea water adapted eel, *Anguilla japonica* and following results were obtained.

1) Discrimination against strontium in favour of calcium was observed at the gill absorption of these minerals.

2) The strontium-calcium discrimination factor ($DF_{gill\ absorptive}$) expressing this discriminating rate was 0.74 in case of fresh water eel. In this case, the fresh water of external medium contained 100 mg. per 1000 ml. of medium.

3) In marine eels, on the other hand, this $DF_{gill\ absorptive}$ was found as 0.67 and this heigher rate of discrimination than that observed in fresh water eels seems to be caused by the pretty high concentration of calcium and strontium in sea water. In this case the sea water of the external medium contained 498 mg. Ca and 12 mg. Sr per 1000 ml. of medium.

The authors wish to express their cordial thanks to Assoc. Prof. Nakamura and Mr. S. Kasahara, Fisheries Experimental Station of Tokyo Univ. and members of Atsumi Fish-breeding Co. Ltd., for the facilities they gave to authors during the collection of marine eels. They are also indebted to Mr. Y. Enomoto, National Institute of Radiological Sciences, for his technical assistance.

References

1) Comar, C. L., R. H. Wasserman and M. M. Nold: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **92**, 859–863 (1956).
2) Comar, C. L., R. H. Wassserman, Sven Ullberg and C. A. Andrews: *Ibid.*, **95**, 386–391 (1957).
3) Lengemann, F. W., C. L, Comar and R. H. Wasserman: *J. Nutrition*, **61**, 571–583 (1956).
4) Singer, L., M. Maqsood, A. B. Medlen and C. L. Comar: *Arch. Biochem. Biophys.* **66**, 404–410 (1957).
5) Krogh, A : Osmotic Regulation in Aquatic Animals. Cambridge Univ. Press. London (1939).
6) Keys, A. B.: *Z. vergl. Physiol.*, **15**, 352–363 (1931).
7) Schiffman, R. H.: *Hanford Biology Research Annual. Report for 1959. Document HW-65500*, 161–164 (1960).
8) Tomiyama, T., S. Ishio and K. Kobayashi: Research on the Effects and Influences of Nuclear Test Explosion. Jap. Soc. Promotion of Science 1157–1162 (1956).
9) Schiffman, R. H.: *Hanford Biological Research Annual Report for 1958 Document HW-59500*, 16–19 (1959).
10) Rosenthal, H. L.: *Science* **126**, 669–700 (1957).
11) ——: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **104**, 88–91 (1960).
12) Boroughs, H., S. J. Townsley and R. W. Hiatt: *Biol. Bull.*, **111**, 336–351 (1956).
13) ——: *Limnology and Oceanography* **2**, 28–32 (1957).
14) Ichikawa, R.: *Rec. Oceanogr. Works in Jap.* **5**, 120–131 (1960).
15) Alexander, G. V., R. E. Nusbaum and N. S. Macdonald: *J. Amer. Water Works Assoc.* **46**, 643–654 (1954).

魚類筋肉内燐化合物の生理化学的研究—V.
水温変化に伴なう燐化合物量の変動

中野智夫

(1961 年 1 月 27 日受理)

STUDIES ON THE PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY OF PHOSPHORUS COMPOUNDS IN FISH MUSCLE—V. QUANTITATIVE DIFFERENCES OF PHOSPHORUS COMPOUNDS IN MUSCLE OF FISH REARED IN DIFFERENT WATER TEMPERATURES

Tomoo Nakano*

In the previous report, it was pointed out that the content of various kinds of phosphorus compounds in fish muscle varied with the seasonal change of water temperature. In this report, it was investigated, by using gibel and mebaru, a kind of rock fish, whether the phenomenon mentioned above can also be seen when the fish were reared at different water temperatures.

The results obtained are shown in Fig. 1, 2 and 3, and can be summarized as follows;

1. In the preliminary experiment, the adaptation of fish to widely varied water temperature was accomplished by changing gradually the water temperature.

2. When the fish were reared at the water temperature suitable for their living, high energy phosphorus compounds content in muscle increased. On the other hand, when the water temperature fell remarkably, the total amount of phosphorus in acid soluble fraction in fish muscle diminished in parallel with the decrease of high energy phosphorus compounds content.

前報[1]において魚類筋肉内の燐化合物量が棲息水温の季節的昇降とほぼ相俟つて変動することを指摘した。本報においては魚を実際に種々の水温下に放養して，それがいかに影響するかについて，より直接的に検討，研究した。

本研究を行なうにあたり終始御懇篤な御指導をいただいた東北大学農学部上尾靖彦教授に衷心より御礼を申し上げる。

実験の部

実験材料： 淡水魚としてはフナ，*Carassius auratus* Linné を用い，海水魚としてはメバル，*Sebastodes inermis* Cuvier を用いた。この両魚を本実験の試料としたのは，共にその生活が季節的な環境変化特に水温変化の影響を蒙りやすい魚種で，本実験を行うのに適当と認めたからである。なお，その適水温は比較的巾が広く，フナが 10～25°C，メバルが 10～20°C にあると考えられる。

実験方法： フナの場合，水温は 25°C，15°C，10°C，5°C の 4 区分とした。試験日数は 10～12 日である。ただし実験期間中は餌を与えていない。5 尾づつの魚を 5*l* 入りのガラスバットに 3*l* の池水とともに入れた。試料のための採肉は 5 尾からほぼ等量づつとつた。

メバルの場合は水温が 5°C，10°C，15°C の 3 つの水槽を用い，日数は 10 日とした。なお，この実験期間中は，どの水槽の水もその流入，流出量は等しく間断なく行なわれた。

* 聖霊女子短期大学家政学研究室 (Department of Home Economics, Holy Ghost Junior College).

燐化合物の抽出，測定方法は前報[2]と同様である。

結果および考察

フナの場合： まず試験時の平常の棲息水温である 25°C から低水温 5°C ないし 10°C に魚を適応させるための予備実験を行なつたところ，Table 1 に示すごとき結果を得た。

Table 1. Experiments to transfer fish from a water at 25°C to a water at 5°C.

Temperature of water in which fish were transferred from water at 25°C	Days fish were reared in water at 5°C	Size of fish body	The number of deaths in 5 fish	Remarks
25°C ↓ 5°C	1	Large	3	The living fish hardly moved.
		Small	1	Two of the still living fish hardly moved.
	2	Large	5	
		Small	2	The living fish hardly moved.
	3	Large	5	
		Small	5	
25°C ↓ 15°C (for 5 days) ↓ 5°C	1	Large	1	One of the still living was lively but the others were motionless.
		Small	1	Two of the still living were lively but the others were motionless.
	2	Large	4	The living fish was lively.
		Small	1	Two of the still living were lively but the others were motionless.
	3	Large	4	The survived one was so lively.
		Small	3	One of survivals was so lively.
25°C ↓ 15°C (for 5 days) ↓ 10°C (for 5 days) ↓ 5°C	10	Large	5	All of them were so lively.
		Small	5	All of them were so lively.

これによると，25°C から直ちに 5°C へ，25°C から 15°C（5 日間）さらに 5°C へと 20°C ないし 10°C という大きな水温変化を与えると，5°C に移して 3 日後に生き残つているものは前者では 0 尾，後者では大型が 1 尾，小型が 2 尾であつた。一方，25°C から 15°C（5 日間），10°C（5 日間），5°C へと 15°C 以下の温度変化を小さくした場合には大小両魚とも外観上の顕著な変化は認められなかつた。かかる結果にもとづいて飼育水温の移行は段階的に行なうこととした。

次に本実験に入つた。その結果は Fig. 1, 2 に示すごとくである。

この結果から明らかなように，飼育水温が高まるにつれて筋肉内の高エネルギー燐化合物量が増大して行くことが認められる。また，温度の上昇に伴なつて，TP に対する IP の割合が減少し，逆に 7′P, CP および RP の占める割合が増大している。更に注目されることは，TP が温度低下とともに減少していることである。この理由としては，前報[1]にも述べたように魚類が水温の低下に伴なつて体内の燐酸を酸不溶の脂質系化合物などとして利用して行くためであろうと考えている。

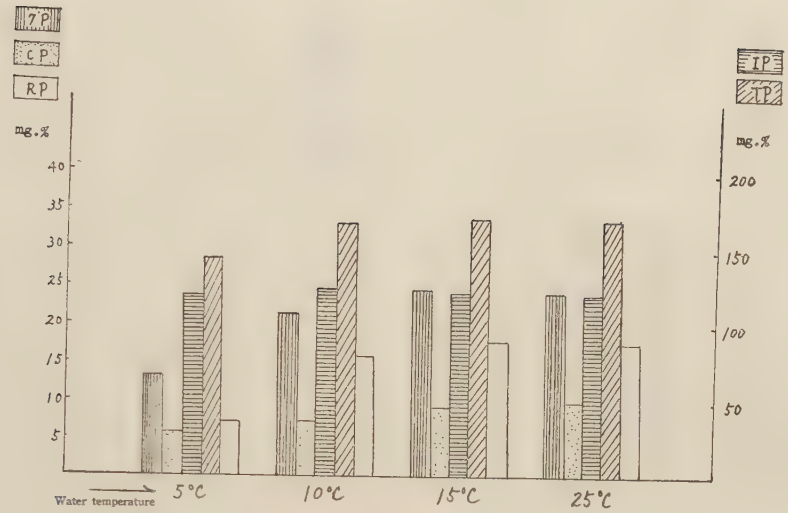


Fig. 1. Content of various phosphorus compounds in muscle of gibels which were reared at different water temperatures. (Small size of gibels)

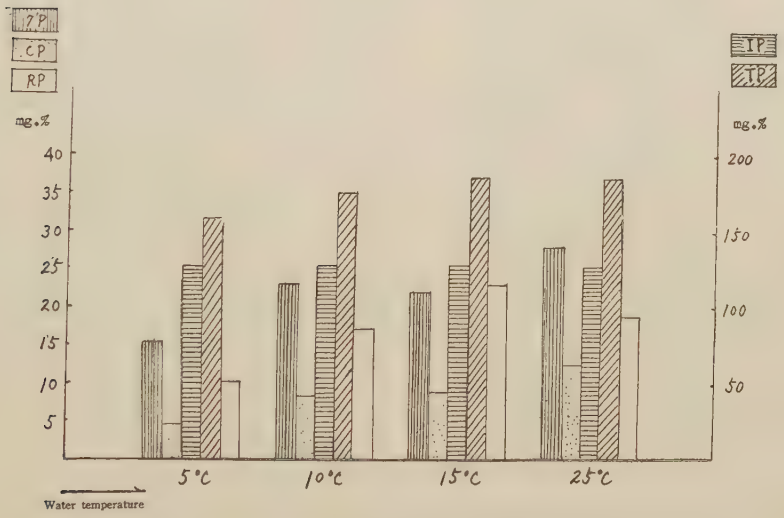


Fig. 2. Content of various phosphorus compounds in muscle of gibels which were reared at different water temperatures. (Large size of gibels)

メバルの場合: 結果は Fig. 3 に示すごとくである。

IP はどの水温のものもほぼ同じで 110～115 mg% を示した。また TP はフナの場合と同様に水温 5°C のものが特別に低い値を示した。かつこの不適水温と考えられる低水温に飼育されたものは適水温，あるいはそれに近い水温と考える 10°C, 15°C に飼育されたものよりも CP, 7'P 含量がはるかに少ない。すなわち，10°C のものは CP, 7'P をそれぞれ平均 3.8 mg%, 35.5 mg%, 15°C のものはそれぞれ 6.1 mg%, 20.5 mg% 含んでいるのに対して，5°C のものはそれぞれ 0.7 mg%, 13.2 mg% 含んでいるに過ぎない。また，このことは温度が低いと TP に対する IP の割合が増大し，棲息適水温附近では逆に有機性燐の割合が大きくなると表現できる結果として現われている。

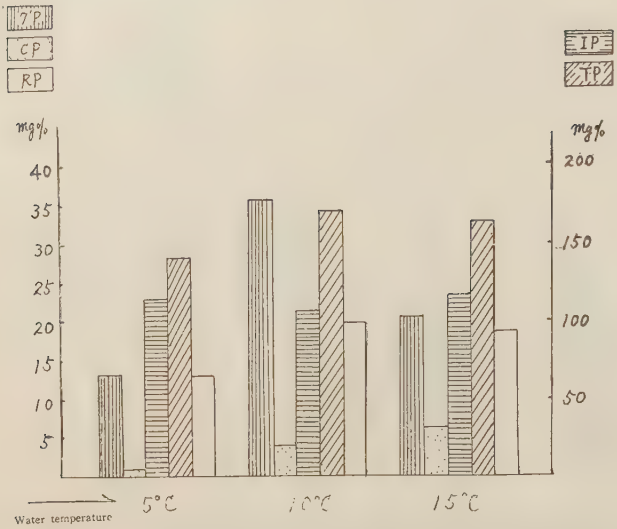


Fig. 3. Content of various phosphorus compounds in muscle of a kind of rock fish (mebaru in Japanese) which were reared at different water temperatures.

綜合的考察: 以上 2 つの実験結果から明らかなように，同一水温に飼育されたものの間にも多少の個体的な差は見られるが，全体的に見て，水温の変化に伴なつて魚筋肉内燐化合物が質的および量的に変動を来すことが実証されたわけである。なおわれわれが魚類を飼育するさいにしばしば経験するところのこと，すなわち魚類は棲息する環境条件が良好であれば游泳運動，摂餌活動が極めて活発であり，不適当な環境条件下ではそれが不活発で，最悪の場合には苦悶し，ついに死に至ることを見るが，これを本実験結果と考えあわせてみると次のようになると思う。すなわち，環境条件のなかで最も重要なものとして当然水温を考えることができるから，それをここにあてると，結局，前者すなわち良好な水温下にある魚は恐らく体内の代謝が活発に営なまれ，魚体内部と外部とのエネルギー回転も順調，活発に行なわれるのに反して，後者すなわち不適当な水温の魚においてはその代謝過程に円滑さを欠いて，エネルギーの均衡が失なわれ，魚が衰弱するものと考えることができよう。それはまた著者がかつてサバの食餌消化について観察したこと，すなわち水温 23°C に棲息するサバにカタクチイワシを与えると 13～15 時間後にはほとんど全く胃内消化は完了してしまうが，水温 15°C では摂餌後 26 時間後でもなお胃内にほとんど原型のまま止まつており，さらに漁獲適水温とされている 17°C では摂餌後 24 時間で約 90% が消化されているのが観察されたこととともある程度関連して考えることができるように思う。すなわち上述の 17°C と 23°C はいずれもサバの適水温内にあり，一方 15°C はその範囲外の低水温でサバにとつては不適当な環境と考えられる。以上は消化機能をその例として考察したのであるが，このように魚が適水温に生きるか，不適水温に生きるかによつて魚の代謝機能が活発，不活発となり，それがひいては魚の体内的，体外的生活活動に大きく影響をおよぼすもので，それが本実験において各種燐酸化合物の消長という形ではつきり現われたものと思うことである。

要　　約

1. 季節的環境変化特に水温変化の影響を蒙りやすいフナおよびメバルを異なる水温に飼育し，棲息水温が筋肉内燐化合物におよぼす影響について直接的な検討を加えた。

2. 魚の棲息水温を例えば 25°C から 5°C へというように急激に変化させると魚は斃死する。かように大巾な変化を与える場合には 25° → 15° → 10° → 5°C というように段階的に行なうことが必要である。

3. 棲息適水温にある場合には不適水温にある場合に較べて筋肉内に高エネルギー燐化合物をかなり多量に含有するようになる。この現象は適水温にあるものは不適水温にあるものに較べて生活活動が活発，円滑であり，従つて筋肉内代謝も活発となり，高エネルギー燐化合物に対する要求も量的に高まるためであろうと考察された。かつまた，水温が低下するに従い酸溶性総燐量が減少することも指摘された。

文　　献

1) 中野智夫: 本誌，**27**, 147 (1961).
2) 中野智夫・土屋靖彦: 本誌，**26**, 1095 (1960).
中野智夫: ——，**26**, 1192 (1960).

抄　　録

カキとクラム幼生の餌料としての 10 属の微小生物の相対的価値　H. C. DAVIS and R. R. GUILLAND: *Fishery Bull.*, **58** (131), 293-304 (1958).　カキ *Crassostrea virginica*, クラム *Venus mercenaria* の幼生を実験材料とした。それらの幼生に与えた餌料は Chrysophyta に属する *Isochrysis*°, *Monochrysis*°, *Prymnesium*°, *Phaeodactylum* (*Nitzschia* と同じ) と, Chlorophyceae に属する *Dunaliella*°（2種類), *Chlamydomonas*, *Platymonas*, *Chlorococcum*, *Chlorella*（2種類), Stichococcus の 10 属, 12 種類で, それらの大きさは 2～11μ の範囲である (○印は細胞膜なし)。実験の結果, 単一餌料では *Isochrysis* と *Monochrysis* がどちらの幼生も同じ価値をもつ最もよい餌料であり, とくにカキの幼生には最上のもので, クラムには前記二者と *Chlorococcum* が最上であつた。混合餌料では *Isochrysis*, *Monochrysis*, *Dunaliella*, *Platymonas* を等量に混ぜたものが, それらの餌料を単独に等量与えたものより, 幼生の成長はより良好であつた。*Isochrysis* と *Monochrysis* の濃度を 5 段階に分けて, 両幼生で実験したが, *Chlorella* の時と同様に, それらの幼生の成長率は高濃度でも落ちず, またへい死もなく, 比較的成長は良かつた。細胞膜の存在と, 多分その厚みと, 新陳代謝でできる毒の程度とが, 二枚貝の幼生の餌料としての微小生物が, 果して使用できるかどうかを決める重要なきめ手になると信じられる (*Stichococcus* と *Prymnesium* は毒性がある)。(相良順一郎)

ULVA（アサオ）におよぼす植物ホルモンの効果　L. PROVASOLI: *Biol. Bull.*, **114** (3), 375-384 (1958).　アオサを Bacteria-free で培養したとき無機の培養液で育つか, または有機の要素を必要とするかを調べた。試験は葉片を洗い, Penicillin-G, Chloramphenicol, Polymyxin-B, Neomycin の混合液で 7 日間処理後培養液に移した。螢光灯 24 時間照射では死ぬものが出たので, 後には 16 時間照射で行なつた。培養液は始め ASW III を使つたが ASW 8 の方が良い結果が出たので, 後にはそれを使つた。培養したアオサは 2～4 mm の短かい変態的な糸状の芽にしかならず, やがて白くなつてしまうが鮮やかな緑色をした細胞の塊と仮根部が残る。これを新らしい培養液に移すと直接新らしい芽を作る。Bacteria-free で正常な発生をしないのは微生物の生成物であるインドール酢酸や Gibberellin などの欠如によると考え, これらを加えてみた。Kinetin 10μg% + IAA 5μg%（これに 10μg% の Gibberellin を加えると更に良い）で, 芽の形成伸長に良い結果を得たが, 葉状体にはならず天然に見られるような発生法は Adenine 3mg% + Kinetin 20μg% でのみ得られた。芽が白くなるときに残る緑色細胞斑や仮根が直接新らしい芽を出すことは不適条件下で生き残るため, また葉が切れ離れたところでふえるため重要な手段であると思われる。

(梅林　脩)

南アメリカ太平洋岸におけるカツオ・マグロの標識放流試験　MILNER B. SCHAEFER: *Ann. Rep. Inter-American Tropical Tuna Commission*, 1959. 53-61 (1960).　アメリカ赤道海域マグロ委員会は 1955 年よりカツオ・マグロの標識試験を行ない, つぎの結果を得た。1958 年には 11,594 尾のキハダと 33,502 尾のカツオの標識放流をなし, それぞれ 5.3%, 2.0% の再採率, 1959年には 20,470 尾のキハダ, 49,911 尾のカツオの標識放流で 3.6%, 1.9% の再採率を得た。カツオの再採率の低いのは漁獲率の低いことに帰因しよう。魚群の移動範囲（面積）と日数の関係を調べた結果, キハダは周期性をもつて回遊するようで, 半年目に移動距離（面積の平方根）が最大 (200 マイル以下) に達し, 1 年目に再び放流地点に近づく。カツオは放流後数カ月で移動距離 260 マイルに達し, 以後その距離は一定である。このことは 15°N を境いに, 南でも北でも同じ傾向である。キハダの成長率は 500～600 mm (放流時の体長) のもので年平均 256 mm, カツオは 400～500 mm のもので年平均 121 mm で, いずれも急速な成長を示す。体重の年増加率は, キハダ 16.4 ポンド, カツオ 6 ポンドであつた。また, 標識魚の再採率から減耗を推定できるが, この減耗率には自然死亡率, 漁獲率のほか, 標識の脱落と漁業の行なわれない他区域への逸散も含まれる。計算の結果, キハダの年減耗率は 95.7%, カツオは 98.2% であつた。(井上　実)

Huron-Michigan 湖のアミの垂直移動　B. ALFRED, M.: *Res. Bd. Canada*, **17** (4), 517～539 (1960).　1954, 1955 年 6～11 月, Huron, Michigan 湖において, アミの垂直移動に関する試験が行なわれた。プランクトンネットは 3 種類で, 2 つは 1/2 m, 1 つは 1/4 m で, 一定水深を曳く装置をつけ, 0～63 m の水深を 10 m 間隔で採集した。結果: アミの垂直移動は24時間中行なわれ, 日中は海底近くでのみ棲息するが, 夕方水面の明るさが 15～1 foot-candle に減少すると, 水面まで浮上する。温度躍層があるときは, 夕方は水面まで浮上することもあるが, 夜間遅くは大部分のアミは水温躍層のなかか, その下に止まる。季節により, 垂直移動は異なり, 夏が過ぎ日が短かくなると, アミは早く浮上し, 朝方は遅くまで浮上している (沈み始めるときの水面の明るさは 10^{-3}～10^{-2} foot-candle)。性別の移動の相違は明瞭ではないが, 個体の大きさ別では多少差が認められ, 小さいアミの方が時刻的に早く浮上することがあつた。垂直移動の速さはだいた

い 0.4～0.8 m/min. である。両湖の比較では移動状態に差はなかつた。これらの観測結果から判断して，アミの垂直移動に関する環境要素は光と水温とであり，特に光に対しては，アミは鋭敏な反応性を示す。(井上　実)

ニシン (Clupea harengus) の低級脂肪酸　R.B. HUGHES: *J. Sci. Food Agric.* **11**, 47 (1960).

ニシンの低級揮発性脂肪酸の研究にガスクロマトグラフィーおよびペーパークロマトグラフィーを適用した。まずニシンを 10～13°C に貯蔵し，これらの方法を用いて4日間一定期間ごとに測定を行なつたところ，新鮮肉の場合 100g 中醋酸 10mg，蟻酸 1mg，プロピオン酸 0.4mg の他時に僅かの (0.03 mg 以下，これはペーパークロマトグラフィーでは検出されなかつた) 正酪酸が含まれていた。これら4つの酸のこの期間中の変化はよく似ており，初めの 36 時間は僅かしか変化しないが，その後はすべて速やかに増加し始めた。腐敗の後期 (72 時間およびそれ以後) ではイソ吉草酸が少量ガスクロマトグラムに現われた。次にニシンを普通の氷，5 p.p.m. の oxytetracycline を含む氷，および 5 p.p.m. の chlortetracycline を含む氷の3種を使つて貯蔵したものの揮発性酸の変化を調べた。21 日間までのこの低温貯蔵試験の結果，抗生物質の存在は揮発性酸の生成速度に著しい影響を与えなかつた。しかし同様の条件で行なつた貯蔵試験における官能検査の結果では抗生物質が有効であることが示されているので，これは揮発性酸の値が魚の鮮度よりも死後経過時間を示すように思われる。また抗生物質の効果がみられないということは，これらの酸が腐敗菌によつて生成されるのではないのか，またはその生成菌が抗生物質に対して抵抗があるためと思われる。またこの他に考えられることは腸内細菌が抗生物質の浸透しない筋肉中に浸入したためということである。最後にニシン肉を缶詰にして加熱した場合の影響を調べたところ，蟻酸，醋酸およびプロピオン酸のどの酸についても一定の変化はみられず，また酪酸は検出されなかつた。不揮発性酸の値が缶詰肉の品質検査に用いられているが，この方法はこの値が加熱処理中に変化しないことに基くものである。本研究において揮発性酸について得られた結果もまたこれと同じことが確かめられた。またこの結果は，これらの酸がいずれも加熱中に筋肉の他の成分と反応しないことを示している。(金光庸俊)

高級鯨肉ミールの成分とアミノ酸含量　H. PRITCHARD and P. A. SMITH: *J. Sci. Food Agric.* **11**, 249 (1960).　1シーズン中に生産された鯨肉ミールの平均試料7種 (船上で製造したもの2種，陸上で製造したもの2種，死後経過時間を変えて船上で製造したもの3種) の一般成分，ビタミンB群および必須アミノ酸含量を測定した。pH はやや酸性 (5.1～6.3) を示し，脂肪 (3.65～7.40%) および灰分 (1.99～10.14%) は試料によりやや異なる。このため粗蛋白量 (80.00～91.14%) にもわずかな相違がみられる。遊離脂肪酸 (オレイン酸として 10.02～41.00%) は死後ミール製造までの時間の長いものの方が多い。一般に鯨肉ミールはビタミンB群に富んでいるが，パントテン酸 (平均 4.96 p.p.m.) はやや低い。B_{12} は陸上で製造されたもの (0.061 p.p.m.) の方が船上で製造されたもの (0.017, 0.026 p.p.m.) より多い。ニコチン酸 (52.8～116.0 p.p.m.) およびコリン (2683～4800) は乾燥工程中安定でかなり多量に存在する。死後経過時間はB群含量に影響しないようである。

これらミールの必須アミノ酸含量 (7種平均，粗蛋白中 %) は Arg 4.96, His 2.28, Lys 7.30, Tyr 2.32, Try 1.02, Phe 4.40, Cys 0.85, Met 1.67, Thr 6.48, Leu 7.60, Ileu 5.14, Val 2.78 で，white fish meal よりアルギニン，バリンおよびメチオニンが少ないがスレオニンに富んでいる。鯨肉ミールを穀類蛋白に添加することにより，穀類蛋白に少ないスレオニンおよびリジンを補足することができる。(金光庸俊)

脱脂魚粉の栄養価　A. B. MORRISON and J. A. CAMPBELL: *Can. J. Biochem. Phyiol.* **38**, 467 (1960).　栄養価の高い魚粉を穀粉および白パンに添加した場合の効果について調べた。雄の仔ネズミに魚粉 (タラ肉から製造した脱脂魚粉で，粗蛋白 90%，水分 5.4%，灰分 6.4% のもの) またはカゼインの蛋白 7, 10, および 15% を含む飼料を与えた場合，4週間後の蛋白効率比 (P.E.R.) は，7 および 10% の場合，魚粉ではそれぞれ 4.19 および 3.80，カゼインではそれぞれ 2.86，および 3.04 であり，前者の方が著しく高かつた。15% の場合では両方とも同じ値 (魚粉 2.71，カゼイン 2.74) を得た。15% 蛋白を含む飼料を与えたネズミの腎臓は他の場合より著しく重かつたが，肝臓，副腎および肝臓脂肪量は蛋白の量と種類には大した影響はなかつた。次に穀粉 100lb に対し魚粉を 2, 4 および 6lb 添加したところ魚粉量の増加にともない P. E. R. は 1.49 (穀粉のみ)，2.12，2.48 および 2.80 と増加したが内臓の重量および肝臓脂肪量には影響がなかつた。最後に 4.2% の固形ミルクを加えたものと加えないもので作つた白パンに (その製造前に) 10% の魚粉を加えたものは各々 82% と 198% P. E. R. が増加した。また肝臓脂肪量は著しく減少した。

穀粉およびパンの蛋白の魚粉添加したもののリジン含量を測定し，P. E. R. との間に著しく高い相関係数 (0.993) が見出された。このことはこれらの飼料の P.E.R. と蛋白中のリジンとは直線関係であることを示している。以上のことから魚粉は高品質の蛋白原料であり，リジンの足りない食物の補足に価値があると結論した。(金光庸俊)

Pseudomonas のアミノ酸脱炭酸酵素について　G. R. SEAMAN: *J. Bact.*, **80** (6), 830～836 (1960).

細菌の脱炭酸酵素は GALE によつて研究され，酸性において生産される適応酵素であるといわれている。しかしその後 PROOM (1951), EKLADIUS (1957) らにより *Proteus* を用いた実験において，pH の変化によつてはその生産が変化を受けない事実が報告されている。著者は鼠の糞から分離した *Pseudomonas* の一種を用いてアミノ酸脱炭酸酵素を研究した。この菌は 18 種のアミノ酸を脱炭酸するが，その至適 pH から 3 つの群に分けることができる。すなわちグルタミン酸だけは pH 4.6～7.0 の間で相異は見られないが，アラニン，アスパラギン酸，ハイドロオキシプロリン，フェニールアラニン，スレオニン，セリンは pH 4.6 に生育した場合が最も活性が大きく，グリシン，ヒスチジン，イソロイシン，ロイシン，リジン，オルニチン，プロリン，バリンは pH 5.8 が大きい。アルギニン，ノルバリン，チロシンは pH 7.0 が大きい。休止菌を 3 時間貯蔵しておくと脱炭酸酵素の阻害物質が生産されるらしく，活性は低下するが，これを洗浄すると回復する。またこの貯蔵菌の上澄を加えると酵素活性は阻害される。静置培養の場合には対数期の後期に最高となり，一度形成された酵素は減少しないが振盪培養では対数期の初期に最高となり，その後急激に減少する。(横関源延)

原子力捕鯨母船（鯨肉の殺菌への応用） G. K. BROKAW et al.: *Nuclear Engineering*. **3** (32) 471 (1958). 捕鯨母船の原子力化に伴ない，単に推進動力源として原子力を利用するのみならず，これを従来の鯨肉の冷凍処理に対して殺菌処理にも利用せんものとの研究計画がたてられている。すなわち推進動力源としては加圧水型原子炉 (PWR) を用い，熱出力 35 MW，炉温度 31.5°C，主機タービン馬力 8,000 SHP，補助動力 3,000 kW である。燃料は Zr のなかに U^{235} を分散した型の板状燃料で U^{235} の全重量は 75.9 kg，燃料交換期間は捕鯨シーズンに合わせて 9 カ月となつており，炉心の大きさは半径 64.9 cm，原子炉全体の大きさは直径 3 m，高さ 4.5 m のものである。一方，この動力用原子炉に，鯨肉の殺菌用として γ 線照射を可能ならしめるため In^{115} を炉心の周囲に厚さ 1 mm の層をなすように取付けられ，熱中性子を吸収した In^{116} を原子炉近くの照射室に導くようになつている。照射用鯨肉は 6″×2″×2″，約 10 lb の角形に切断したものをコンベヤで回わしながら照射室に導き，ここで自動的に γ 線照射が行なわれ，その処理能力は 0.3 Megarep で 150 ton/day，2 Megarep で 21.8 ton/day である。後者の場合では冷蔵の必要なく 3～6 カ月の貯蔵に耐えるが，鯨肉は照射前にポリエチレン包装を必要とする。また 0.1～0.8 Megarep では完全殺菌は不可能であるが，防腐程度の効果をあげるには照射後約 4°C に貯蔵する必要がある。以上の計画は Aerojet-General Nucleonics と California 大学とが共同して発表したものである。(平野敏行)

魚肉蛋白分解に対する抗生物質 (Tetracycline) の影響 N. N. DE SILVA and R. B. HUGHES: *Nature*, **188**, 663 (1960). 抗生物質を加えた氷にニシンを貯蔵した場合，低級脂肪酸の生成速度には影響がないことを報告したが，今度は遊離のアミノ酸について調べたところ，Pro, Met, Thr, Ala, Glu, Lys, Val, Ileu および Leu は 14 日目位までは次第に増加し，次いで減少した。Phe, Tyr および Ser はほとんど変らないが，His, Arg および Gly は全期間を通じ次第に減少した。抗生物質で処理した魚は処理しないものに比べて増減のあつたアミノ酸含量は全期間を通じ常に多かつた。この差は 7 日目より 14 日目の方が大きい。これは多分筋肉中の自己消化が細菌とは無関係に起り，できたアミノ酸が細菌に利用される，しかし抗生物質の存在で細菌数が減り，したがつてアミノ酸が蓄積するためだろう。はじめの 14 日間でアミノ酸が増加することは腐敗の初期に蛋白分解が細菌酵素と関係なく進むことを示している。これらの結果について詳細は他に報告する予定である。(金光庸俊)

環形動物における squalene の生合成 J. M. WOOTTON and L.D. WRIGHT: *Nature* **187**, 1027～1028 (1960). ある種の原生動物や昆虫では cholesterol (**I**) が必須であり，一般に無脊椎物は sterol を生成することができず外因性の sterol 核を適当に変換しうるにすぎないといわれている。一方最近 mevalonic acid がネズミや酵母では squalene (**II**) や **I** の前駆体であることが判明したので環形動物における mevalonic acid の役割について研究した。0.1% Moldex と 1 万単位の penicillin を含む湿つたセルロール粉末中でツリミミズの一種 *Lumbricus terrestris* を 6 日間飼育し，腸内細菌をできるだけ除いたのち，消化管に penicillin と aureomycin を含む 2-C^{14}-mevalonic acid 溶液 (700,000 c.p.m.) を注入した。24時間後に磨砕し，pH 11 で石油エーテルで抽出したが，この濃縮物中にはもとの 10% の放射能が認められた。これを再び石油エーテルに溶解し，アルミナクロマトをおこない，ベンゼン/石油エーテル (1 : 9) で **II** を溶出させ，溶媒溜去後，放射能を測定したが 16,000 c.p.m. が認められ，hexahydrochloride としアセトンで再結するとその比放射能は 630 c. p. m./mg であつた。つぎにこのアルミナカラムからアセトン/石油エーテル (1 : 1) で **I** を溶出させ digitonide としたが放射能は認められず，また先と同様に処理したミミズの磨砕物からえた不鹸化物は 6,200 c.p.m. の放射能を有していたが，これからえた digitonide にも矢張り放射能は認められなかつた。このように環形動物では mevalonic acid から **II** が生成されるが，**I** は生ぜず，**II** から β-hydroxy または 5-α-H-sterol への生合成の経路が欠除しているものと思われる。(岡市友利)

雑　　録

○ 編集会議

1. 日　時　　3月 18 日午後1時 30 分
2. 場　所　　東京水産大学大会議室
3. 出席者　　編集長以下 24 名
4. 議　事

次期編集会議に対する申し送り事項について審議し，これを4月4日の編集会議に提出することとした。

○ 在京学会賞詮衡委員会

1. 日　時　　3月 27 日午後1時
2. 場　所　　東京大学農学部水産学科会議室
3. 出席者　　委員長以下6名
4. 議　事

a. 藤原賞候補は推薦しないこととした。

b. 朝日科学奨励金候補に中村守純氏の「日本産淡水魚類の分布とその繁殖保護に関する研究」を推薦することとした。

○ 理 事 会

1. 日　時　　3月 28 日午後1時 30 分
2. 場　所　　東京水産大学大会議室
3. 出席者　　会長以下 18 名
4. 議　事

a. 昭和 36 年度評議員会に提出する議案について審議した。

b. 入会承認　　個人　15名，　　外国　1名

正　誤　表

Vol. 27, No. 2. p. 102. Fig. 4　図説明

(誤)	(正)
RED (%)/GREEN (%)	GREEN (%)/RED (%)